

Universidad Nacional Autónoma de México
FACULTAD DE QUIMICA

DETERMINACION Y CUANTIFICACION DE PROTEINAS URINARIAS EN
NIÑOS CON DIFERENTE PATOLOGIA RENAL, POR INMUNODIFUSION
RADIAL SIMPLE.



TESIS

que presentan:

GUTIERREZ RODRIGUEZ MARGARITA EUGENIA

JARQUIN ORTEGA CECILIA LUCRECIA

para optar por el Título de:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

1977



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS. Tesis
ADQ. 1977
FECHA Me 1978
PROC.



QUINICA

Jurado asignado originalmente según el tema.

PRESIDENTE: PROFA. MAGDALENA ACOSTA SEGURA

VOCAL: PROF. SALVADOR MARTIN SOSA

SECRETARIO: PROFA. CARMEN REYNA BORDES

1er. SUPLENTE: PROFA. MA. ESTHER GUTIERREZ HIDALGO

2do. SUPLENTE: PROFA. MA. DOLORES LASTRA AZPILICUETA

Sitio donde se desarrolló el tema: I.M.A.N.

Nombre de los sustentantes: Gutiérrez Rodríguez Margarita Eugenia.

Jarquín Ortega Cecilia Lucrecia.

Nombre del asesor del tema: Prof. Salvador Martín Sosa.

Nombre del supervisor técnico: Dr. Samuel Zaltzman.

A NUESTROS PADRES.

NUESTRO AGRADECIMIENTO A:
DR. SAMUEL ZALTZMAN.
Q. F. B. SALVADOR MARTIN S.
DR. REYES SACHLZ.

INDICE

	pág.
CAPITULO I. Introducción	1
CAPITULO II. Antecedentes	3
CAPITULO III. Material y Métodos	30
CAPITULO IV. Historias Clínicas	37
CAPITULO V. Resultados	70
CAPITULO VI. Discusión	86
Resumen	92
Conclusión	93
Bibliografía	94

CAPITULO I

INTRODUCCION.

INTRODUCCION

El filtrado glomerular y la orina normal generalmente se encuentran libres de protefnas. La presencia de protefnas en la orina (proteinuria) se considera como un hecho indicativo de un daño renal, y la cantidad de protefnas excretadas por los pacientes con daños renales es una medida importante de el curso clnico de el paciente.

Las observaciones en los pacientes con el sndrome nefrtico sugieren una asociacin entre el desorden renal y la "selectividad" de la proteinuria. Estos hallazgos hacen notar que la selectividad de proteinuria es aparentemente de gran utilidad para predecir la respuesta de el paciente nefrtico a la terapia de esteroides.

El objetivo de este trabajo consiste en determinar si en niros con sndrome nefrtico de varios tipos, con diferentes glomerulopatfas, presentan selectividad de proteinuria. Esta selectividad se determina en base a obtener el ángulo Θ de la regresión lineal que resulta de graficar la depuración renal relativa de 3 protefnas: albúmina, IgG e IgM, con sus pesos moleculares respectivos. Así mismo se relaciona el ángulo de selectividad de proteinuria obtenido de cada paciente con los hallazgos en sus respectivas biopsias renales, así como su evolución y su respuesta a esteroides.

CAPITULO II

ANTECEDENTES.

ANTECEDENTES.

Normalmente cuando existe una función renal adecuada, la existencia de proteínas en orina es muy baja, pero aún en estas condiciones hay proteinuria, como lo demostró el Dr. Soothill (1). En 1951 Rigas y Heller (2) encontraron que la cantidad de proteína excretada en 24 h en personas normales era de 39 mg. E. Mc. Garry y A.S. (3) reportaron valores de proteínas excretadas en personas jóvenes, de 71 mg en 24 h. En este estado normal la integridad del aparato glomerular impide que las proteínas sanguíneas que pasan por los glomérulos, se pierdan hacia el filtrado glomerular, pero aún así una pequeña cantidad de proteínas se filtran, pero son reabsorbidas por los túbulos. Los túbulos a su vez generalmente excretan una pequeña cantidad de proteínas, las cuales a diferencia de las proteínas que provienen del glomérulo generalmente parecen provenientes del metabolismo propio de las células tubulares, por eso esas proteínas se encuentran en concentraciones diferentes a las plasmáticas y/o son distintas de éstas, por ejemplo las mucoproteínas, las sustancias que provienen de las células tubulares como las lisozimas, - ciertos péptidos, cadenas ligeras de inmunoglobulinas, etc. (4).

Esta proteinuria normal puede acentuarse durante ciertos estados fisiológicos como el ejercicio, la fiebre o la postura (5,6). Así Leube (7) encontró que en 119 soldados cuyas orinas en la mañana estaban libres de albúmina, 14 mostraron proteinuria después de marchas forzadas; Stewart (8) estudió la proteinuria en soldados durante la fatiga; Blake y Larrabee (9) hicieron observaciones en carreras de larga distancia; Collier (10) reportó proteinurias en atletas, especialmente corredores; Volhard (11) hizo sus descubrimientos

en futbolistas, ciclistas, esquiadores, nadadores, boxeadores, y gimnastas. Nebdal y Seliger (12) hicieron un estudio electroforético de la proteinuria de ejercicio para encontrar alguna correspondencia entre las fracciones de proteínas en suero y orina; Slater (13) hizo reacciones de precipitación cuantitativas usando suero anti gamma globulinas del suero y las de la orina recolectada después del ejercicio. Mc. Kay y Slater (14) hicieron estudios de inmuoelectroforesis para estudiar las proteínas excretadas en el ejercicio normal, en la postura, y en los pacientes nefróticos, para determinar la naturaleza de las gamma globulinas.

Previas investigaciones en proteinuria sugieren que existe una relación directa entre el tamaño de moléculas excretadas y la permeabilidad glomerular (15,16,17), por lo que la proteinuria es el resultado de una permeabilidad glomerular incrementada; esta permeabilidad de la membrana bajo condiciones de proteinuria moderada y alta se ha interpretado en términos de distribución de tamaño del poro (18,19,20), en donde la disposición de la permeabilidad del riñón a proteínas séricas individuales se basa en la comparación de sus "depuraciones" del suero. El término de depuración renal se utiliza para indicar la capacidad real de los riñones para eliminar en orina diversas sustancias del plasma. Si 100 ml de plasma que atraviesa los riñones contiene 0.1 g de una sustancia y 0.1 g de esta sustancia pasa a la orina cada minuto, - los 100 ml de plasma quedan desprovistos de la sustancia cada minuto.

La depuración para cualquier sustancia se expresa como el volumen del plasma que contienen la cantidad de la sustancia eliminada en la orina, cuya expresión aritmética es la siguiente:

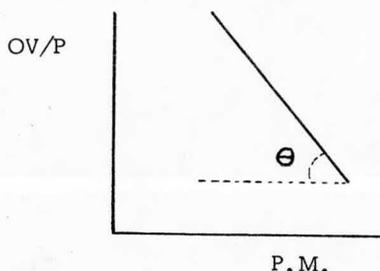
$$\text{ml de plasma depurado por min} = \frac{\text{cantidad de orina (ml/min)} \times \text{conc. en orina}}{\text{conc. en plasma}}$$

La velocidad de depuración es aproximadamente proporcional al tamaño del riñón y al área de la superficie del cuerpo del individuo. Por ello, el cálculo de la depuración de una sustancia dada ha de entrañar una corrección por las desviaciones de la superficie media del cuerpo adulto; esto se consigue agregando el factor $1.73/A$ (1.73 es la superficie corporal media del cuerpo aceptada en general, A es la superficie del cuerpo del paciente bajo investigación). (21,22).

Los pacientes con cambios de membrana muestran una permeabilidad relativa muy marcada de todas las proteínas más grandes, con la aparición de beta lipoproteína igual que la IgG en la orina, mostrando una depuración del 50% del valor de siderofilina. En contraste, los pacientes con lesiones mínimas tienen una filtración altamente selectiva, sólo las proteínas de peso molecular cerca de 200,000 se detectan en la orina y la depuración de gamma globulina era el 10% de la depuración de siderofilina. Este concepto de permeabilidad glomerular sugiere la presencia de "defectos" o "poros" en la membrana glomerular de tales dimensiones que permitan el paso de estas proteínas dentro del filtrado glomerular. Más aún, de una manera indirecta se aplican los estudios de depuración en animales usando dextranas de diversos pesos moleculares (23,24), y han demostrado la distribución de "tamaño del poro" en el glomérulo normal, dentro de un rango de pesos moleculares de 5,000 a 85,000. En adición, estos estudios confirman la relación entre la depuración de una molécula y su peso molecular.

El concepto de selectividad de proteinuria ha probado ser muy útil en la

investigación de síndrome nefrótico (18). Blainey y col. (17) introdujeron este concepto de selectividad definiéndolo como la pendiente de la línea recta que resulta de graficar la depuración renal relativa de proteínas con sus pesos moleculares respectivos, en una gráfica log-log. La declinación de esta línea es mayor cuando cantidades relativamente pequeñas de proteínas de peso molecular alto son excretadas, y se dice que la proteinuria es selectiva; el declive de la línea es plano cuando grandes cantidades de proteínas de - peso molecular más grande están presentes en la orina y la proteinuria no es selectiva. La gráfica se expresa de la siguiente manera:



Además en cada dato del paciente, las depuraciones se expresan en términos de 100% = depuración de transferrina para cada paciente particular.

En el síndrome nefrótico el glomérulo parece dejar escapar proteínas pequeñas a la orina más fácilmente que las grandes. Hay una relación general entre la depuración de cualquier proteína plasmática en la orina y su peso molecular: la depuración se hace menor conforme el peso molecular se incrementa. La sutileza con la cual esto se lleva a cabo varía de paciente a paciente; aquellos con proteinuria selectivamente alta excretan muy poca cantidad de proteínas con peso molecular intermedio en comparación con la cantidad de proteínas de peso molecular pequeño; en otros existe una proporción sig-

nificativa de proteínas de peso molecular elevado en la orina, y la depuración de proteínas de peso molecular elevado se aproxima a las de peso molecular pequeño (17,25). En pacientes con proteinuria elevada (2 g por día) - los patrones de selectividad se correlacionan bien con los diferentes tipos - microscópicos de glomerulonefritis encontrados en adultos y niños (17,26,27) y también con el resultado clínico y respuesta a esteroides (26). Aquellos pacientes con daño renal primario y quienes mostraban alto grado de selectividad de proteinuria, usualmente responden desde el principio a la terapia de esteroides. Los pacientes con daño renal crónico muestran un tipo de selectividad bajo. El grado de selectividad de excreción de proteínas para un paciente dado permanece constante, aunque el total de excreción de proteínas urinarias estuviera variando diariamente (25).

En los pacientes con síndrome nefrótico se ha visto que existe una selectividad de proteinuria. Esta selectividad consiste en la presencia de proteínas de peso molecular aproximadamente de 60 a 200,000. En estos pacientes la albúmina se excreta predominantemente, ya que forma un 73 a 86% del total de proteínas urinarias (4). Además en los niños con síndrome nefrótico - se ha observado que muestran una mayor selectividad que en los adultos. En los niños se encuentra una alta selectividad cuando $\Theta = 70$ a 75° y muestran baja selectividad cuando $\Theta = 60$ a 50° (26), por lo que la regresión lineal en los niños está más vertical que en los adultos, ya que para estos últimos su selectividad es alta cuando $\Theta = 60^\circ$ y baja cuando $\Theta = 35^\circ$; y la selectividad - se reduce cuando hay proliferación endotelial, y disminuye también con el - incremento en la severidad del daño glomerular.

M. Bardare, G.U. Cislighi y G. Zani (28) al estudiar las protefnas urinarias en niños con diferentes padecimientos renales, encontraron que los valores de IgG en orina estaban aumentados en un caso de insuficiencia renal grave terminal. En todos estos pacientes se encontró una concentración elevada de complemento en la orina. Así mismo muchas veces se encontraron IgA en la orina de pacientes con glomerulonefritis, dato que indica una mayor permeabilidad del glomérulo para las sustancias de peso molecular alto (mayores de 200,000), ya que la IgA de peso molecular similar al de la IgG, está más expuesta a polimerizarse y ésto le da un peso molecular mayor. Se ha encontrado en muchos niños con insuficiencia renal crónica una pérdida completa de la selectividad en excreción de protefnas, por lo que se observan cantidades altas de IgM en orina.

Sherman y Becker (29) encontraron que ciertos pacientes con síndrome nefrótico excretan alfa 2-macroglobulina en cantidades pequeñas, entre 7 y 25 mg%. Se desconoce los factores que provocan la excreción de este tipo de globulinas. Estos pacientes con excreción de alfa 2-macroglobulina no tuvieron una disminución en la depuración de creatinina o cualquier otro signo de disfunción renal.

METODOS USADOS.

Se han empleado gran variedad de métodos para determinar la selectividad de proteinuria en pacientes con daños renales. Así citamos a los más importantes y que se han usado con más frecuencia:

1) ELECTROFORESIS EN PAPEL.- (18,30,31). Se hacen los análisis diferencia

les de las protefñas urinarias y séricas; y así Hardwicke y Squire obtuvieron los valores de depuración de albúmina y de 4 fracciones de globulinas.

2) ELECTROFORESIS EN ACETATO DE CELULOSA.- (32,33). Por esta técnica también se cuantifican las protefñas, tiñendo las tiras de acetato de celulosa con Ponceau S. Cada banda se corta y se eluye en amortiguador de barbital. Las lecturas se hacen en un espectrofotómetro a 520 nm .

3) TECNICA INMUNOQUIMICA DE SOOTHILL.- Joachim y Cameron (23) aplicaron esta técnica preparando placas de agar al 2% con amortiguador de fosfatos y cortaron 6 pozos de 8 mm de diámetro (para el antígeno), y 6 pozos de 5 mm de diámetro (para el anticuerpo). Se obtuvieron sueros inmunes comerciales de conejo o cabra contra albúmina, transferrina, IgA, IgG, orosomucoide, beta-lipoprotefna y alfa 2-macroglobulina. Esta técnica también la aplicaron Hardwicke y Soothill (20) los sueros inmunes específicos se prepararon en conejos. Así también S. Cameron y R. White (26) emplearon este método para determinar las depuraciones de: orosomucoide, albúmina, transferrina, IgG, IgA, alfa 2-macroglobulina y beta-lipoprotefna. Mac Lean y Robson (34) emplearon esta técnica también para medir la selectividad usando sólo 2 protefñas: albúmina y alfa 2-macroglobulina o transferrina y alfa 2-macroglobulina. Mac Lean y Petrie (35) también han usado este método para medir selectividad con 2 protefñas: transferrina e IgG. Sherman y Becker (29) han empleado este método para determinar: albúmina, alfa 2-macroglobulina, transferrina e IgG. Cameron (37) ha usado este método para medir la depuración de 5 a 7 protefñas plasmáticas.

4) INMUNOELECTROFORESIS.- En este método ocurre una migración de las -

proteínas y al efectuarse ésta cada proteína reacciona con su respectivo suero inmune específico, formando bandas de precipitación. Maiorca y Scarpioni (38) usaron esta técnica empleando sueros inmunes anti: IgG, alfa 2-macroglobulina, beta 2-macroglobulina, fibrinógeno, alfa 1-lipoproteína, alfa 2 y beta lipoproteína, y transferrina, para probar la excreción urinaria de ma cromoléculas de proteínas, así también esta técnica la empleó Pollak (32) - al igual que R. Barcelo y Pollak en su estudio preliminar de proteínas urina- rias (39).

5) TECNICA INMUNOQUIMICA DE MANCINI.- Esta técnica es de inmunodi- fusión radial simple. Cuando una cantidad desconocida de antígeno se difun- de radialmente de un pozo en una placa homogénea de agar conteniendo el - anticuerpo, por un tiempo suficiente, hasta que todo el antígeno se combina, el área final en la que se encuentra el precipitado es directamente proporcio- nal a la cantidad de antígeno empleado e inversamente proporcional a la con- centración del anticuerpo (40). Así Amadeo J. Pesce y Víctor E. Pollak (41) emplearon placas comerciales para determinar la selectividad de proteínas - en orina. Sherman y Becker (29) también han utilizado placas comerciales pa- ra transferrina, IgG y alfa 2-macroglobulina. Cameron y Blandford (36) usa- ron placas comerciales para determinar transferrina e IgG.

6) RESINAS DE INTERCAMBIO IONICO.- (29,35,41). La resina que más se ha empleado es de gel de Sephadex G-200.

De todo este análisis de métodos se ha visto que la técnica de electrofo- resis en papel es directamente aplicable sólo a la albúmina y a la gamma glo- bulina, por ejemplo, aquellas fracciones que son sustancialmente homogé- —

neas; las fracciones alfa y beta globulinas son mezclas de tantas proteínas con diferentes pesos moleculares, que las depuraciones no pueden tener un significado real por esta técnica (18,20).

Hardwicke y Soothill en 1961 (20) usaron la técnica inmunoquímica de Soothill para calcular las depuraciones de 6 proteínas. Cada depuración la expresaron como % de la depuración de siderofilina. Ellos encontraron diferencias considerables en selectividad de proteinuria en varios pacientes: aquellos con cambios en la membrana muestran una permeabilidad marcada a todas las proteínas más grandes, y la gamma globulina presenta una depuración del 50% del valor de la depuración de siderofilina. Los pacientes con lesiones mínimas presentan gran selectividad, con la depuración de gamma globulina del 10% en relación a la depuración de siderofilina.

Maiorca y Scarpioni (38) al estudiar la excreción urinaria de macromoléculas en proteinuria, emplearon un método inmunológico y un método de ultracentrifugación. Al comparar estos dos métodos vieron que los resultados diferían, por lo que asumieron que los fragmentos o monómeros de las macromoléculas nativas con frecuencia se encuentran en orina. No hallaron relación entre la cantidad y tiempo de proteinuria en las diversas nefropatías.

Joachim y Cameron (23) usando la técnica inmunoquímica de Soothill, hicieron 65 determinaciones de selectividad y obtuvieron un ángulo de gran selectividad para $\Theta = 60^\circ$ y agregan que la reproducibilidad del método es buena.

Mac Lean y Petrie (35) emplean el método de filtración en gel de Sephadex G-200 para estimar la selectividad de proteinuria. Ellos compararon los

valores de selectividad por filtración en gel con los valores de selectividad por inmunodifusión, y mostraron que estos valores se correlacionan bien en ambos métodos, excepto en los casos de proteinuria de menos de 1.0 g por día, ya que la técnica de filtración en gel de Sephadex G-200 no puede hacer distinción entre proteínas de origen sérico y las del tracto urinario, de ahí que no pueda tener un valor de selectividad para pacientes con proteinurias menores de 1.0 g por día.

Cameron y White (26) usaron el método inmunoquímico de Soothill modificado para determinar la selectividad de proteinuria en niños con síndrome nefrótico y obtuvieron valores de: $\Theta = 75^\circ$ como alta selectividad y $\Theta = 60^\circ$ para baja selectividad.

Cameron y Blandford (36) usaron dos métodos para obtener valores de selectividad: el método de Soothill y el de Heremans. Determinaron sólo las depuraciones urinarias de dos proteínas: transferrina e IgG. La depuración de IgG se expresó como un % de la depuración de transferrina. La predicción - como "buena" o "mala" en los pacientes en base a la depuración de IgG en relación a la depuración de transferrina está de acuerdo en el 84% de los pacientes en los que se efectuaron ambos métodos. Además agregan que el método de Soothill presenta varias desventajas como:

- 1) Se requiere de tiempo para preparar las diluciones de orina, plasma y anticuerpo, y esto puede ser impreciso en el análisis de rutina.
- 2) El resultado se obtiene hasta el día siguiente.
- 3) Si se usan sueros inmunes comerciales, aún la determinación de las depuraciones de dos proteínas es relativamente cara.

4) La experiencia es esencial en la lectura de las placas, y se cometen gran des errores a menos que la técnica se aplique con regularidad.

Los mismos autores consideran que el método de inmunoplasmas elimina - todas estas desventajas y han demostrado que da resultados comparables. -- La placa está lista al momento, no es necesaria una dilución de orina o plasma, su llenado lleva pocos minutos, y las lecturas requieren poca experiencia. Además, sus resultados son comparables con los obtenidos por los métodos más laboriosos, en donde se determinan depuraciones de 6 proteínas - diferentes.

Barcelo y Pollak (39) siguieron los métodos de inmunodifusión e inmunoelectroforesis de 7 proteínas diferentes, para determinar selectividad de proteinuria. El método de doble difusión en gel se hizo según Soothill, y las depuraciones se midieron como un % de la depuración de albúmina, empleando sueros inmunes comerciales. Ellos no encontraron correlación entre los cambios histológicos y la excreción de proteínas. Tampoco encontraron un patrón específico de proteínas urinarias. Proteínas de peso molecular alto se encontraron raramente en orina, aún cuando la membrana basal glomerular estaba engrosada. Con frecuencia se observaron proteínas de peso molecular bajo, pero su depuración fué variable. Estos resultados sugieren que la depuración de proteínas no es de valor para el diagnóstico y tampoco sirve de herramienta para el pronóstico del desorden renal. Tampoco sostienen el punto de vista de que la filtración glomerular sea el único factor responsable - del patrón final de proteínas urinarias, sino que debe tomarse en cuenta también la reabsorción tubular como un factor importante.

Mac Lean y Robson (34) emplearon el método de inmunodifusión doble de Soothill modificado. Determinaron la selectividad usando sólo dos proteínas la albúmina y la alfa 2-macroglobulina, o transferrina y alfa 2-macroglobulina. Con estos dos pares obtuvieron valores de selectividad comparables a aquellos que se obtenían cuando se calculaban las selectividades en base a 5 proteínas, cuando usaban albúmina y gamma globulina o transferrina y gamma globulina se tenía un coeficiente de variación más alto (9.2%), pero la discrepancia es aceptable para propósitos de rutina.

Pollak y col. (32) aplicaron 3 métodos para medir las proteínas séricas - en sueros concentrados y sin concentrar. En el método de electroforesis con acetato de celulosa, los cambios de proteínas en el suero concentrado y en el original son pequeños, excepto para la IgG que mostró una pérdida significativa. Por el método de inmunolectroforesis con suero inmune humano completo comercial, se observaron pocos cambios en el suero concentrado y en el original. Por inmunodifusión radial simple de Mancini casi no hubo cambios en estas 2 muestras.

Amadeo Pesce y Víctor E. Pollak (41) hicieron una evaluación de dos técnicas para determinar la selectividad de proteinuria: un método inmunofísico (inmunodifusión radial) y filtración en gel con Sephadex G-200. En Sephadex se obtienen sólo las depuraciones de albúmina e IgG, ya que en los tubos intermedios de elución entre estas dos proteínas hay mezclas de ambas. Por inmunodifusión radial se obtuvieron las depuraciones de: albúmina, ceruloplasmina, alfa 2-macroglobulina, alfa 1-lipoproteína y beta lipoproteína. Cada depuración la expresaron como un % de la depuración de albúmina. Al -

comparar los valores de las relaciones O/S de cada proteína por estos dos métodos, se vió que no había relación entre estos dos valores.

Cameron (37) empleó el método de Soothill modificado para determinar selectividad de proteinuria, midiendo las depuraciones urinarias de 5 a 7 proteínas plasmáticas. Cada depuración la expresa como un % de la depuración de transferrina. Obtuvo una buena correlación entre la selectividad que encontró y la respuesta al tratamiento de cada paciente; ningún paciente con una proteinuria no selectiva respondió bien al tratamiento.

Sherman y Becker (29) estimaron la selectividad por dos métodos: una técnica de difusión simple basada en el procedimiento de Mancini, y una técnica de doble difusión. En la técnica de doble difusión se usaron los sueros inmunes frente a 6 proteínas, y se obtuvieron las relaciones de O/P para cada proteína. La técnica de difusión simple fué modificada para incluir tres proteínas en vez de dos. Se usaron inmunoplasmas comerciales y cada valor de depuración se expresó como un % de la depuración de transferrina. En 6 pacientes que excretaban alfa 2-macroglobulina en la orina, la selectividad determinada por el método de difusión simple con tres proteínas fué significativamente menor (38.7 ± 3.8) que la selectividad obtenida cuando se cuantificaron dos proteínas (60.2 ± 8.4). No se notó diferencia significativa entre la selectividad por doble difusión (58.9 ± 8.6) y la difusión simple usando tres proteínas (61.4 ± 4.1). Tampoco hubo gran diferencia entre la doble difusión (58.9 ± 8.6) y la difusión simple usando dos proteínas (65.3 ± 10.0).

La diferencia de selectividad entre los métodos de difusión simple puede deberse a la presencia de alfa 2-macroglobulina.

TRATAMIENTO DE MUESTRAS.

De la misma manera como existe una variedad de métodos para determinar selectividad de proteinuria, así mismo, se han empleado varias técnicas para tratar las muestras de orina y suero, al cuantificar proteínas individuales en éstos. Entre las principales técnicas están las siguientes:

- a) PRECIPITACION DE LAS PROTEINAS CON ACIDO TRICLOROACETICO.- (18, 39).
- b) DIALISIS DE LA ORINA EN AGUA DESTILADA y luego CONCENTRACION de - la misma con POLIVINILPIRROLIDONA (PVP) hasta tener una concentración de proteínas totales de 5% (33,38).
- c) DILUCION DE LAS MUESTRAS DE ORINA Y SUERO CON NaCl 0.15 N, para seguir la técnica de Soothill (23,26,34,36,37).
- d) DIALISIS DE LAS MUESTRAS DE ORINA toda la noche con agua corriente, - concentración por DIALISIS CON POLIETILENGLICOL, y centrifugación para - seguir la técnica de filtración en gel de Sephadex G-200 (35).
- e) PERVAPORACION.- Se coloca la muestra en una bolsa de diálisis y se cuelga en una corriente de aire, producida por un ventilador eléctrico. En 5 a 7 - días el volumen de 100 ml disminuye a 5 ml (33).
- f) ULTRAFILTRACION MAS LIOFILIZACION.- La muestra diluida se filtra en -- membranas de colodión y se concentra de 100 ml a 5 o 10 ml en 6 a 8 h . Este material se recupera y se lava la membrana con agua destilada, y se vuelve a filtrar. Se liofiliza, y este material liofilizado se pesa y se disuelve en agua destilada para tener una concentración de 6-7 g% de proteína (33).
- g) CONCENTRACION DE LA MUESTRA EN MEMBRANAS DIAFLO UM-1.- La --

muestra se diluye en solución salina y luego se concentra a temperatura ambiente, a un volumen de 2 a 8 ml con una célula de ultrafiltración Amicon modelo 5 U, y membranas de ultrafiltración Diaflo UM-1 (geles hídricos del complejo de interacción de polianiones y policationes). (29, 34, 41).

En todos estos métodos, se ha visto que ninguno es tan satisfactorio para poder recuperar el 100% de proteínas totales, y principalmente para evitar que se degraden algunas proteínas. Así tenemos que cuando se hace la concentración con PVP se obtiene una recuperación de proteínas totales de $97.4\% \pm 26.4\%$, pero se perdía un gran porcentaje de albúmina y daba una sobreestimación de la alfa 1-globulina. Con el método de pervaporación se recupera el $60.0\% \pm 22.0\%$ de las proteínas totales y por lo tanto las cantidades de albúmina, - alfa 2, beta y gamma globulinas están disminuidas. Por el método de ultrafiltración más liofilización se recupera el $57.6\% \pm 19.61\%$ de proteínas totales, y aunque es un método en el cual se obtienen cambios mínimos y mejor reproducibles, no es el conveniente para cuantificar proteínas individuales (33). - Además se ha visto que varias proteínas de pesos moleculares altos como: beta-lipoproteína, IgM, alfa 2-macroglobulina y alfa 1-lipoproteína se pierden cuantitativamente como resultado de la concentración de las muestras (33). Los datos mencionados fueron reportados por Miyasato y Pollak, pero estos - autores no dan explicación sobre la pobre recuperación encontrada para el método de pervaporación y para el de ultrafiltración y liofilización.

Con el método de concentración en las membranas Diaflo UM-1 se recupera el $94.8\% \pm 20.3\%$ de las proteínas totales y se ha observado que casi - no hay pérdida o desnaturalización de las proteínas individuales (32).

Por otro lado, cuando se emplean las inmunoplasmas comerciales la muestra de orina sólo se centrifuga y se aplica directamente a las inmunoplasmas, obteniéndose resultados satisfactorios (11, 17, 32).

METODO.

INMUNODIFUSION RADIAL SIMPLE.

Recientemente, las reacciones de precipitación en que los antígenos y anticuerpos se difunden a través y reaccionan en matrices semisólidas (por ejemplo, gel de agar) han llegado a ser herramientas esenciales en el análisis bioquímico.

La difusión se debe a la agitación que existe entre las moléculas, átomos y iones; así si se coloca una molécula en el centro de una caja con gel de agar, en un tiempo infinito la molécula se difundirá en cualquier dirección posible, siendo al azar tanto una dirección como otra; si se tienen dos moléculas, aumenta la posibilidad de tomar varias direcciones (42). Experimentalmente se ha encontrado que la velocidad de difusión es proporcional a la diferencia de concentración de un lado y otro del límite de separación, o mejor - todavía, al gradiente de concentración dc/dx , donde c es la concentración de macromoléculas, en gramos por centímetro cúbico de disolución. La velocidad de difusión se ha encontrado, además, que es proporcional al área que hay que atravesar, A . Si la velocidad de difusión se establece como dw/dt , o sea número de gramos de sustancia que pasa el límite por unidad de tiempo, se obtiene la ley de difusión de Fick,

$$\frac{dw}{dt} = - D A \frac{dc}{dx}$$

La constante de proporcionalidad D se llama coeficiente de difusión y se añde un signo menos para que D pueda ser una cantidad positiva. El coeficiente de difusión representa la cantidad de soluto que difunde de un lado a otro por centímetro cuadrado de sección, bajo un gradiente de concentración de -1 g/ (cc)(cm) . Por tanto, el coeficiente de difusión es una magnitud característica para cada disolvente y a cada temperatura de la tendencia de difusión del soluto. (43).

La técnica de inmunodifusión en gel, está basada en el hecho de que la difusión de las sustancias que reaccionan crea un gradiente de concentración en el gel. Como resultado, los cocientes de concentración de antígeno-anticuerpo adecuados para la inmunoprecipitación ocurren en zonas muy estrechas en donde se pueden ver los precipitados como líneas opacas en los geles --- transparentes. Se mezcla una concentración relativamente baja del anticuerpo monovalente con el agar. Una cantidad conocida de antígeno se aplica en un orificio del gel. Tan pronto como el antígeno comienza a difundir a través del agar, se diluye lo suficiente para formar un halo de precipitación con el anticuerpo; pero a medida que continúa difundiendo y su concentración aumenta, el precipitado inicial se redisuelve con el exceso de antígeno. De tal manera que el frente de precipitación avanza siguiendo al frente de difusión del antígeno, pero ligeramente atrás, y crea la imagen de un precipitado que migra lentamente. Durante la inmunodifusión en geles que contienen un anti---cuerpo específico, el antígeno correspondiente en presencia de otros antígenos da lugar sólo a un precipitado cuya distancia de migración, a un tiempo dado, es proporcional al logaritmo de la concentración del antígeno (44).

La difusión no es completamente libre, ya que varía inversamente con la viscosidad del medio, lo que es tomado en cuenta cuando las soluciones son concentradas. Las reacciones de difusión en gel son dependientes del alto grado de contenido en agua, habitualmente 99% del soporte gelatinoso; esto permite la migración de los antígenos o de los anticuerpos a través del gel por difusión casi independiente del medio de soporte, con la condición de -- que los componentes que reaccionen tengan un diámetro menor que el ancho de la microestructura micelar de los geles. Así, las moléculas de peso molecular por debajo de 200,000 pueden pasar con relativa facilidad a través de las micelas; pero las de mayor tamaño, como las de fibrinógeno, alfa 2-lipoproteína, alfa 2-macroglobulina e IgM son retardadas por la fricción entre la superficie de las moléculas proteicas y los canales de las micelas (44).

En la difusión radial simple, uno de los componentes en el sistema antígeno-anticuerpo, (generalmente el anticuerpo), se incorpora a la placa del gel de agar en una superficie plana, mientras que el otro componente se aplica en un orificio en el gel y se permite su difusión radial. Los anillos de precipitación se formarán y migrarán concéntricamente alrededor de los orificios, después de un tiempo la migración cesa, debido al hecho de que la cantidad de antígeno aplicada en los orificios ya reaccionó con el anticuerpo contenido en la matriz (44).

Después de cierto tiempo, a una temperatura constante, las áreas cubiertas por el inmunoprecipitado son examinadas, ya sea directamente o después de la tinción específica para proteínas. Existe una relación lineal entre la concentración del antígeno y el área o diámetro del inmunoprecipitado termi-

nal, siempre y cuando la difusión proceda hasta que todo el antígeno se haya combinado. La relación lineal fué encontrada en una amplia gama de concentraciones del antígeno. Se prueban simultáneamente una serie de diluciones de la solución estándar de antígeno que es el marco de referencia en la placa de la prueba (44). En el área final del precipitado la temperatura no influye, ya que una vez llegado al equilibrio entre antígeno y anticuerpo no habrá más difusión (40).

Aunque se sabe que la temperatura influye en la velocidad de asociación entre dos componentes antígeno-anticuerpo, es tal vez más ventajoso llevar a cabo la inmunodifusión entre 20 y 40° para acelerarla, pero debe existir un control estricto a estas temperaturas, ya que cambios moderados en la temperatura durante la inmunodifusión pueden dar lugar a falsos precipitados. De cualquier manera no todas las reacciones antígeno-anticuerpo son estimuladas por una elevada temperatura (44).

Preparación de las cajas de agar. - El suero inmune diluído se mezcla -- con una solución de agar al 3% (P/V) disuelta en amortiguador de barbital, y que contiene como agente bacteriostático merthiolate al 0.01% (P/V). La mezcla de agar-suero inmune se vacía en cajas de Petri precalentadas y que se encuentran en posición horizontal, para formar una capa de 1.0 mm. Las cajas son cubiertas; después de que el agar se endurece se perforan los orificios de 1.0 mm de diámetro. En los orificios se colocan (con pipetas calibradas o jeringa Hamilton) volúmenes conocidos de una solución estándar -- del antígeno en NaCl al 0.9% (P/V) (por ejemplo: de 0.2 a 0.5 μ g de albúmina/ml) y de la solución de concentración desconocida del antígeno. Después

de varios días de inmunodifusión, cuando los precipitados han dejado de migrar, se mide el diámetro o el área de los círculos cubiertos por la inmunoprecipitación; cada uno de éstos es directamente proporcional a la cantidad de antígeno. La curva estándar se grafica, en donde se relaciona el área o el diámetro a la cantidad del antígeno empleado. Las áreas o los diámetros son medidos directamente por medio de un equipo apropiado de amplificación. Si se desea las áreas de inmunoprecipitado pueden ser teñidas (44).

Tinción.- Para facilitar la interpretación de los resultados, los inmunoprecipitados pueden ser revelados por medio de tinciones. Antes de la tinción, las proteínas que no reaccionaron deben ser eluidas mediante el lavado de las placas con solución de cloruro de sodio al 0.9%.

El método de Mancini es muy sensible, y su principal ventaja consiste en la cuantificación precisa del antígeno, pues permite reconocer concentraciones tan bajas como 0.00125 μg de Ag/ μl de suero, además de que el resultado final es independiente de las influencias fisicoquímicas como es la temperatura (40).

El tiempo necesario para que el precipitado llegue a ser estacionario y obtener un área suficiente, cubierta por el inmunoprecipitado, depende del antígeno en cuestión. El tiempo requerido es de solamente unas cuantas horas para componentes de bajo peso molecular, pero de varios días para los de alto peso molecular (44).

PADECIMIENTOS RENALES.

El síndrome nefrótico es una entidad que como su nombre lo dice, no es más que un síndrome que tiene una etiología variable y según ello puede cla-

sificarse en: primaria, cuando la causa no se conoce y en secundaria cuando puede ser de origen renal o extrarrenal con alteraciones renales secundarias.

El síndrome nefrótico es una colección de signos y síntomas; es una entidad clínica debida a múltiples causas, íntimamente asociada a muchas enfermedades y directamente debida a un aumento de la permeabilidad de la pared del capilar glomerular, presentando una proteinuria masiva. La asociación de proteinuria, edema, hipoproteinemia, lipidemia y lipiduria nos da el diagnóstico clínico, que a menudo se realiza con certeza en ausencia de alguno de éstos.

Las diferentes causas del síndrome nefrótico varían con la edad, así tenemos que el llamado síndrome nefrótico lipofídico es la causa más frecuente de síndrome nefrótico en pre-escolares (2 a 5 años), en cambio en adultos es la amiloidosis y la glomeruloesclerosis diabética.

El diagnóstico preciso de la causa de un síndrome nefrótico se hace a través de la histología renal, de esta manera la biopsia renal percutánea ha ayudado a realizar un diagnóstico de certeza la mayor parte de las veces, y además ha servido para establecer una correlación patológica de la historia natural de la enfermedad de acuerdo con su etiología variable. Así mismo la imagen histológica interpretada con las diferentes técnicas de tinción y la descripción por inmunofluorescencia de los depósitos de diferentes proteínas, ha ayudado a establecer una terapia, o bien, la respuesta a ésta. Así vemos que ciertas nefropatías como la de lupus eritematoso diseminado y el síndrome nefrótico lipofídico, mejoran con la administración de esteroides, mientras que en otros padecimientos como la glomerulonefritis membrano-prolifer-

rativa y la glomerulonefritis membranosa no tienen terapia alguna (45, 46, 47).

Los padecimientos renales analizados a continuación fueron los presentados por los pacientes incluidos en nuestro estudio:

1.- SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO: Es la causa principal en los pre-escolares, su etiología aún es desconocida, por lo que se le considera síndrome nefrótico primario. En la gran mayoría no hay el antecedente de infección previa, ni antecedente obvio en la aparición repentina del cuadro clínico del síndrome nefrótico antes descrito, sin la manifestación de hipertensión ni hematuria, o ésta puede ser muy ligera y con pruebas de funcionamiento renal normales. Su imagen histológica no es evolutiva y no está en relación con la gravedad del proceso, aunque su pronóstico en la mayoría es muy bueno. Se observan los glomérulos completamente normales, aunque algunos pueden presentar cambios proliferativos locales mínimos, con o sin engrosamiento de la membrana basal. Su evolución por lo general es transitoria con buena respuesta a los esteroides, sin embargo en algunos casos puede presentarse como recurrente o cíclica alternada con episodios clínicos de remisión completa. Ellos constituyen las formas esteroides-resistentes, que obligan al cambio de tratamiento (45, 47).

2.- GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVA: Constituye el 20% de todas las glomerulonefritis no específicas en los niños, y el 90% de los casos se presentaron en niños de más de 8 años. Las niñas son más frecuentemente afectadas. Esta entidad también puede observarse en otras entidades etiológicas, especialmente en enfermedades sistémicas. Pruebas de inmunofluorescencia indican depósitos de inmunoglobulinas y de complemento en --

las paredes de los capilares glomerulares; el nombre de glomerulonefritis persistentemente hipocomplementémica se debe a que presenta cifras bajas de complemento.

Las lesiones histológicas se han clasificado en dos tipos:

- a) Glomerulonefritis membrano-proliferativa con depósitos subendoteliales y/o hendiduras de las paredes capilares.
- b) Glomerulonefritis membrano-proliferativa con depósitos densos en la membrana basal.

Se pueden observar tres patrones diferentes:

- 1.- Glomerulonefritis membrano-proliferativa pura.
- 2.- Glomerulonefritis membrano-proliferativa con patrón globular.
- 3.- Glomerulonefritis membrano-proliferativa con depósitos de medias lunas.

Clínicamente se presenta como un síndrome nefrótico que raramente es -- completo en sus síntomas y signos, ya que solamente puede ser químico-persistente, tarde, persistente y transitorio e intermitente. También éste puede faltar. Se acompaña de un síndrome nefrótico manifestado por hematuria que a menudo es importante en el inicio del padecimiento, la cual posteriormente va disminuyendo en el segundo año, pero siempre es constante, aunque - en forma excepcional puede persistir como macroscópica, y por ello se ha tomado como una probable estimación para el tiempo de evolución de la enfermedad. También se presenta hipertensión y retención de elementos azoados, como manifestación del síndrome nefrótico.

A continuación se describe la correlación clínica e histológica:

- a) La presencia y persistencia del síndrome nefrótico, así como la insuficien

cia renal temprana son indicativas del mal pronóstico, mientras que la presencia de hematuria y la existencia de remisiones durante el curso de la enfermedad no son de valor pronóstico.

b) Es un padecimiento progresivo que varía de 18 meses a 18 años con un promedio de 5.5 años, y que invariablemente lleva a la insuficiencia renal crónica. Aún su etiología no es precisa, pero la presencia de este padecimiento en riñones trasplantados, sugiere una enfermedad probablemente del sistema inmunológico. En la actualidad no se encuentra con tratamiento efectivo (48).

3.- GLOMERULONEFRITIS FOCAL: Forma el 7.4% de todas las glomerulonefritis crónicas. Tiene dos características esenciales:

a) De los glomérulos afectados, la lesión ocupa menos de la mitad del glomérulo, lo que le da la característica de segmentaria.

b) No todos los glomérulos están afectados, sino que algunos pueden estar intactos (pero debe recordarse que la sección del corte histológico puede -- ser falsamente una imagen de todo el glomérulo afectado, o bien todos los - glomérulos de la muestra). La proporción de glomérulos afectados varía de - 2/3 a 1/3, y de ella se deriva el nombre de focal. Las lesiones histológicas consisten esencialmente en aumento localizado de material fibrilar mesan-- gial, frecuentemente no acompañado de proliferación celular mesangial o endotelial. Estos cambios proliferativos ocurren en la periferia de los glomé-- rulos, pero también puede observarse adyacente a los capilares, un engrosa-- miento localizado en la membrana basal y adhesiones o fibrosis entre los ca pilares y la cápsula de Bowman. El proceso esclerótico se extiende a través del glomérulo individual, siendo la destrucción variable, pero un hecho im-

portante es la presencia simultánea de glomérulos afectados. También puede haber material hialino subendotelial. En algunos casos puede haber marcada atrofia tubular con infiltración de células inflamatorias crónicas en el tejido intersticial.

En un estudio de 22 niños, mostró una predominancia el sexo femenino, - cuya edad de presentación varió de un mes a 14.5 años con un promedio de - 5.5 años. Los signos clínicos y de laboratorio encontrados fueron: síndrome nefrótico, proteinuria asintomática, síndrome nefrótico y nefrítico, presencia o ausencia de hematuria, hipertensión inicial o subsecuente con niveles séricos de complemento anormales (excepto 3 niños). La correlación clínica pa tológica sugiere que a mayor daño renal más pobre selectividad de proteinuria y mayor insuficiencia renal. Aún no existe un tratamiento específico, y - se utilizan esteroides, ciclofosfamida, azothioprina y combinaciones, sin lo grar una respuesta al tratamiento, por lo que generalmente evoluciona en 2 - meses a 10 años hacia insuficiencia renal crónica, presentándose las remisiones espontáneas en forma excepcional (48).

4.- GLOMERULONEFRITIS CON PROLIFERACION ENDOCAPILAR (O INTRACAPILAR): Constituye el 4.8% de todos los casos de síndrome nefrótico en niños y adultos. Se puede observar en la evolución de una glomerulonefritis aguda, en donde ha persistido la proliferación intracapilar inicial. También se ha visto en casos de glomerulonefritis crónica sin evidencia previa de es tado agudo inicial. La proliferación crónica endocapilar tarde o temprano se complica con depósitos hialinos en las regiones axiales y periféricas del -- glomérulo, y este estado intermedio puede encontrarse en las formas lobu-

lar y membrano-proliferativa. Estas formas generalmente se asocian a un --
cuadro clínico de proteinuria simple con hematuria microscópica. A veces se
presenta síndrome nefrótico, el cual es resistente a esteroides. Su evolu---
ción no progresa rápidamente hacia insuficiencia renal crónica (46).

CAPITULO III.

MATERIAL Y METODOS.

METODOLOGIA.

RECOLECCION DE MUESTRAS:

Se recolectaron muestras de niños con padecimientos renales del tipo de glomerulonefritis y síndrome nefrótico que presentaron proteinuria y a los -- que se les habfa practicado una biopsia renal para proporcionar un diagñóstico histológico.

La orina de cada paciente se recolectó en 24 horas, se tomó una alcuota, se centrifugó y se guardó en congelación hasta el momento en que se -- cuantificaron protefnas. Se obtuvieron también muestras de sangre sin heparinizar, y se dejaron coagular, se centrifugaron a 2,5000 rpm aproximadamen te durante 10 minutos; se separó el suero de cada muestra y se guardaron en el congelador a -20°C.

METODOS EMPLEADOS:

A) DETERMINACION CUANTITATIVA DE PROTEINAS TOTALES EN ORINA:

Para esta determinación se empleó el método del ácido sulfosalicflico al 3%. La curva estándar se preparó con Monitrol, que es un suero comercial - que contiene 7 g% de protefnas totales. Se hicieron diluciones del suero, - para tener un rango de concentración que va de 7 a 100 mg% de protefnas to- tales.

Las diluciones del Monitrol y las muestras de orina se trataron de la misma manera:

- 1.- Colocar en tubos de ensaye de 16 x 150, 1.0 ml del problema (o de la - dilución respectiva del estándar).
- 2.- Adicionar a cada tubo 4.0 ml de ácido sulfosalicflico al 3% .

3.- Agitar los tubos perfectamente.

4.- Leer los tubos después de 5 minutos y antes de 10 min., en el espectro fotómetro a una longitud de onda de 520 nm, para medir turbidez en % de -- Transmittancia. Cada tubo se lee contra su blanco respectivo, que se prepara mezclando 1.0 ml de la muestra y 4.0 ml de agua destilada.

B) DETERMINACION CUANTITATIVA DE PROTEINAS INDIVIDUALES EN ORINA Y SUERO:

Se empleó el método de inmunodifusión radial simple para cuantificar 3 proteínas: albúmina, IgG, e IgM, en orina y suero.

Se utilizaron inmunoplasmas comerciales para determinar las proteínas individuales cuantitativamente.

Para determinar las proteínas en suero, se emplearon las placas Tri-Partigen de Behring, cuyos rangos de sensibilidad son:

Placa:	Rango de sensibilidad:
Tri-Partigen IgG	20 a 200 mg%
Tri-Partigen IgM	40 a 450 mg%
M-Partigen albúmina	50 a 600 mg%

Para determinar las proteínas en orina, se emplearon las placas LC-Partigen que tienen un rango menor de sensibilidad, que son:

Placa:	Rango de sensibilidad:
LC-Partigen IgG	1 a 10 mg%
LC-Partigen IgM	1 a 10 mg%
LC-Partigen albúmina	4 a 60 mg%

Para la determinación de albúmina y de IgG en suero, se llevaron a cabo

diluciones de las muestras en sol. salina isotónica, 1:10. Para cuantificar IgM en suero, albúmina, IgG e IgM en orina no se hizo ninguna dilución ni se hizo concentración de las muestras. Para la determinación de albúmina e IgG en las muestras de orina que presentaban más de 1.0 g% de protefnas to tales se hicieron las diluciones correspondientes para caer en el rango de -- sensibilidad de la placa.

Se hizo una curva estándar para cada placa, empleando Suero Humano - Estándar Estabilizado (SHEE), lote # 975, en tres diferentes diluciones en - solución salina isotónica. Cada dilución se colocó en un pozo, empleando - 5 ul en las placas para suero y 20 ul en las placas de baja concentración; - en los pozos restantes se colocaron las muestras de los **pacientes**. Una vez llenados todos los pozos, se dejaron difundir las muestras a temperatura am biente sobre una superficie plana hasta que no hubo variación en las lectu-- ras en un período de 24 h . Al finalizar el tiempo de difusión, se midieron - los diámetros de los anillos de precipitación, empleando una lente calibra- da en mm, sobre una fuente luminosa, para que se pudieran observar perfec- tamente los límites de cada halo de precipitado.

Las placas de LC-Partigen para IgM e IgG se intensificaron los precipi- tados mediante ácido tánico, ya que el halo de precipitación era débil. Las placas se lavaron con solución salina isotónica durante 3 días, para elimi- nar las protefnas no precipitadas, cambiando 2 veces al día la solución sa- lina de lavado; después se eliminó el exceso de agua y se cubrió la placa - con ácido tánico al 4% por 30 min, y se dejó en agua destilada por 1 h, así el precipitado se intensificó y pudo observarse claramente.

Se graficaron en papel milimétrico las concentraciones (expresadas en mg%) de las diluciones del SHEE, contra los diámetros al cuadrado de los ha los de los anillos de precipitación. Y en esta gráfica se interpolaron los diámetros al cuadrado de los anillos de precipitación de las muestras, para obtener sus concentraciones respectivas.

C) DETERMINACION DEL ANGULO DE SELECTIVIDAD DE PROTEINURIA (Θ).

Para determinar este ángulo, se hace la gráfica de: depuración de cada - protefna contra su peso molecular en una escala log-log.

Se calcularon las depuraciones de albúmina, IgG e IgM. Por medio de mínimos cuadrados se determinó la pendiente (que es igual a la tangente del - ángulo Θ), cuya fórmula es (49):

$$m = \frac{N(\sum xy) - (\sum x)(\sum y)}{N(\sum x^2) - (\sum x)^2}$$

El eje X corresponde al log del peso molecular de cada protefna.

El eje Y corresponde al log de la depuración de cada protefna.

N es el número de protefnas cuantificadas.

Así cuando cuantificamos 2 protefnas, albúmina e IgG, el valor de N es 2, entonces tenemos:

	X	X ²
log 68,000	4.83	23.35
log 160,000	5.20	27.08
log 900,000	5.95	35.45

Por lo tanto:

$$N(\sum x^2) - (\sum x)^2 = 2(50.43) - 100.73 = 0.138$$

Cuando cuantificamos 3 protefnas, albúmina, IgG e IgM, N vale 3, por lo tanto:

$$N(\Sigma x^2) - (\Sigma x)^2 = 3(85.88) - 255.70 = 1.959$$

D) METODO ESTADISTICO:

Se emplearon técnicas estadísticas para averiguar si podía observarse alguna correlación entre ángulos de selectividad Θ y datos clínicos (número de recaídas) o datos de laboratorio (depuración de creatinina y proteinuria - de 24 h).

Se determinó el grado en que las variables se encuentran relacionadas. La medida de correlación debe ser independiente de la elección del origen - para las variables y debe ser independiente también de la escala de medidas empleadas para X, Y. A esta medida se le llama Coeficiente de Relación (r), y se define por la fórmula, (50):

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{(n-1)(S_x S_y)}$$

El número de muestras con las que se hizo el análisis fué de $n = 7$ (para el grupo de pacientes con glomerulonefritis de diversos tipos) y de $n = 11$ - (para el grupo de pacientes con síndrome nefrótico lipofídico), por lo que el Coeficiente de Relación debe tener un valor de: $r \geq 0.632$ (para $n = 11$) o de $r \geq 0.811$ (para $n = 7$), tomando en cuenta que se tiene 10 y 6 grados de libertad respectivamente, para obtener un valor de $p \leq 0.05$.

La regresión lineal es útil para hacer estimaciones acerca de qué variables conviene para resolver problemas de predicción. La línea recta se ajusta por el método de mínimos cuadrados. Así tenemos que la ecuación de la -

recta es (50):

$$y' = a + b (x - \bar{x})$$

en donde:

$$a = \bar{y} \qquad b = \frac{\sum (x_i - \bar{x}) y_i}{\sum (x_i - \bar{x})^2}$$

Para determinar si la diferencia de los ángulos Θ entre el grupo con síndrome nefrótico y el grupo con diferentes glomerulonefritis, son significativos (o sea que se deben a la diferencia de los daños renales), se emplea la t de Student, cuya fórmula es (51):

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{S^2 (1/n_1 - 1/n_2)}}$$

Para que los datos sean estadísticamente significativos $t \geq 2.12$ para 19 muestras, con 16 grados de libertad y obtener un valor de $p \leq 0.05$.

CAPITULO IV.

HISTORIAS CLINICAS.

ANÁLISIS DE LAS HISTORIAS CLÍNICAS Y CORRELACION CON LOS DATOS DE LABORATORIO.

Para hacer un análisis comparativo de los datos estudiados se obtuvieron datos correspondientes a las historias clínicas de los pacientes y a los estudios histopatológicos de las biopsias respectivas:

G.Z.M.

Edad: 2 años 4 meses.

Sexo: masculino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO IDEOPATICO. Se observa biopsia únicamente con dilatación de capilares. No hay aumento de la celularidad, ni hiperplasia mesangial. En los túbulos hay abundante material granular eosinófilo.

Urografía excretora: (2-X-75): normal.

Paciente que inicia su cuadro con glomeruloesclerosis y anasarca, siendo internado 15 días después (1-X-75) presentando hipoalbuminemia, hipercolesterolemia, proteinuria de 400 mg/24 h, además de hematuria e hipertensión. Se manejó con diuréticos y prednisona.

El segundo ingreso (26-XI-75): recae por cuadros infecciosos: gastroenteritis (*Salmonella* grupo B y *E. coli*) y rinofaringitis (*Cándida* sp.); se le da ampicilina, penicilina, furosemide, espironolactona y prednisona, esta última se aumenta de 35 mg/día a 45 mg/día por persistir hipoalbuminemia y proteinuria. Se da metronidazol por giardiasis. Se da de alta sin proteinuria y albúmina de 4.3 g%, con complemento normal y colesterol de 286 mg%.

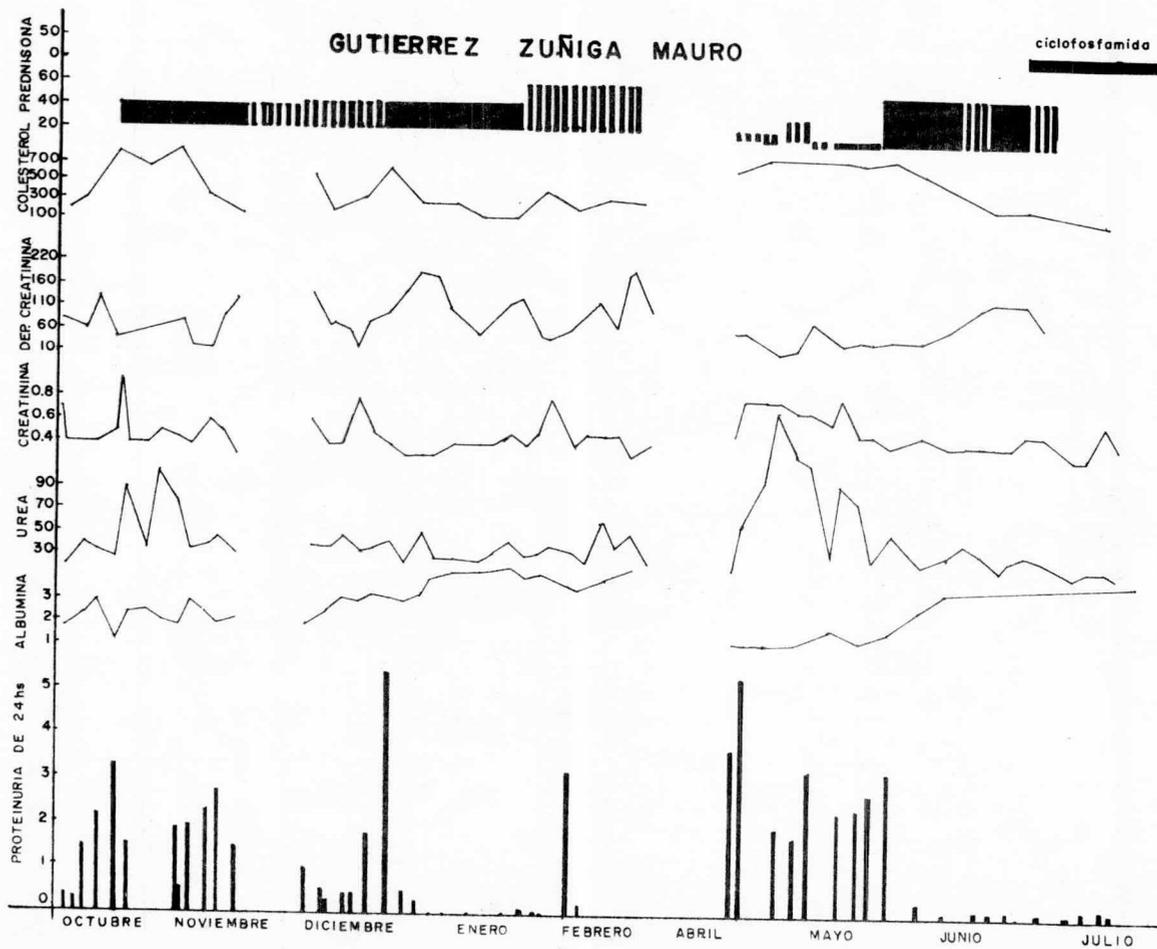
Tercer ingreso (9-IV-76): recae clínica y químicamente con cuadros infecciosos: gastroenteritis y fiebre; se inicia con esteroides en días alternos por

4 semanas sin remisión, pero por haber un brote de rubéola en la sala de -- hospitalización, para evitar que adquiriera esta enfermedad se da de alta el 28-IV-76, disminuyéndole los esteroides a 10 g/día.

Cuarto ingreso (3-V-76): exacerbación del edema, gastroenteritis, dolor abdominal, hipertensión y moniliasis oral; mejora con ampicilina por 5 días y se reinstalan los esteroides ya que el paciente no presentó rubéola, a 50 mg/día, presentando mejoría a partir del 14-V-76. A partir del 2-VI-76 se aplican los esteroides cada 48 h, pero se observa proteinuria todavía y se reinstalan diariamente, añadiéndole ciclofosfamida a dosis de 2 mg/kg/día. El 13-VII-76 continúa con ciclofosfamida, sin edemas, con hipertensión ocasional, química sanguínea normal, depuración de creatinina de 73 ml/min., albúmina sérica de 3.9 g%, examen general de orina normal, continuará con el tratamiento por 4 meses y posteriormente se le irá disminuyendo la dosis paulatinamente.

GUTIERREZ ZUÑIGA MAURO

ciclofosfamida



H.H.E.

Edad: 5 años 6 meses.

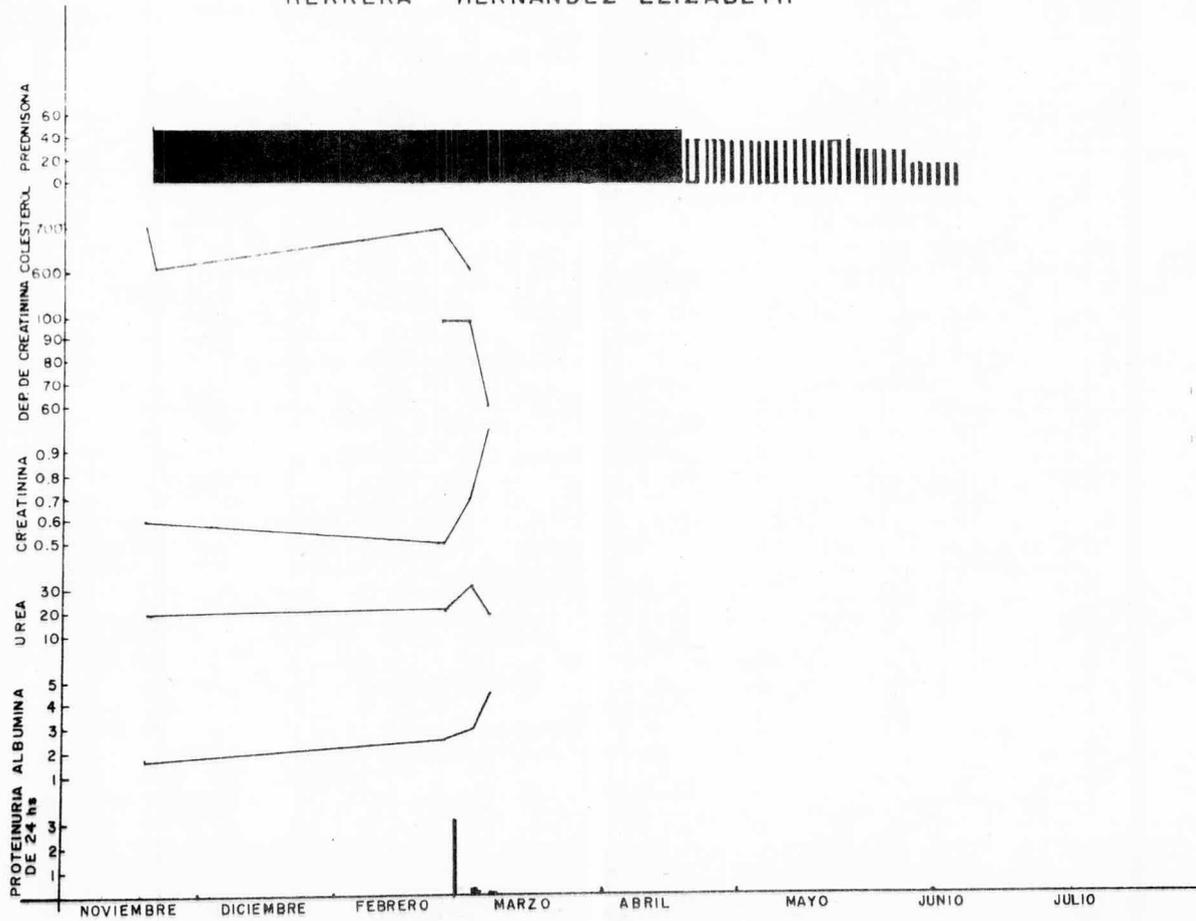
Sexo: femenino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO. En el campo se observan 6 a 8 glomérulos, sin hiperplasia ni esclerosis; los túbulos tienen material eosinófilo en la luz; se observan vasos e intersticios sin lesiones. Por inmunofluorescencia se observan depósitos irregulares de IgM, fibrina y fibrinógeno.

Urografía excretora (II-76): normal.

Inicia su padecimiento en septiembre de 1975 con edemas intermitentes en párpados y en miembros inferiores, con padecimientos infecciosos respiratorios, no presenta hematuria, normotenso y normocomplementémico. Inicia tratamiento con esteroides (60 mg/ metro cuadrado de superficie corporal/día), el 19-IV-76 se disminuye la dosis a 40 mg/día y cura ya un mes - sin proteinuria. En mayo continúa con proteinuria negativa, asintomática y los esteroides se le van disminuyendo. En junio el examen general de orina es normal (sin proteinuria). Tiene buena evolución.

HERRERA HERNANDEZ ELIZABETH



H.R.F.

Edad: 14 años.

Sexo: masculino.

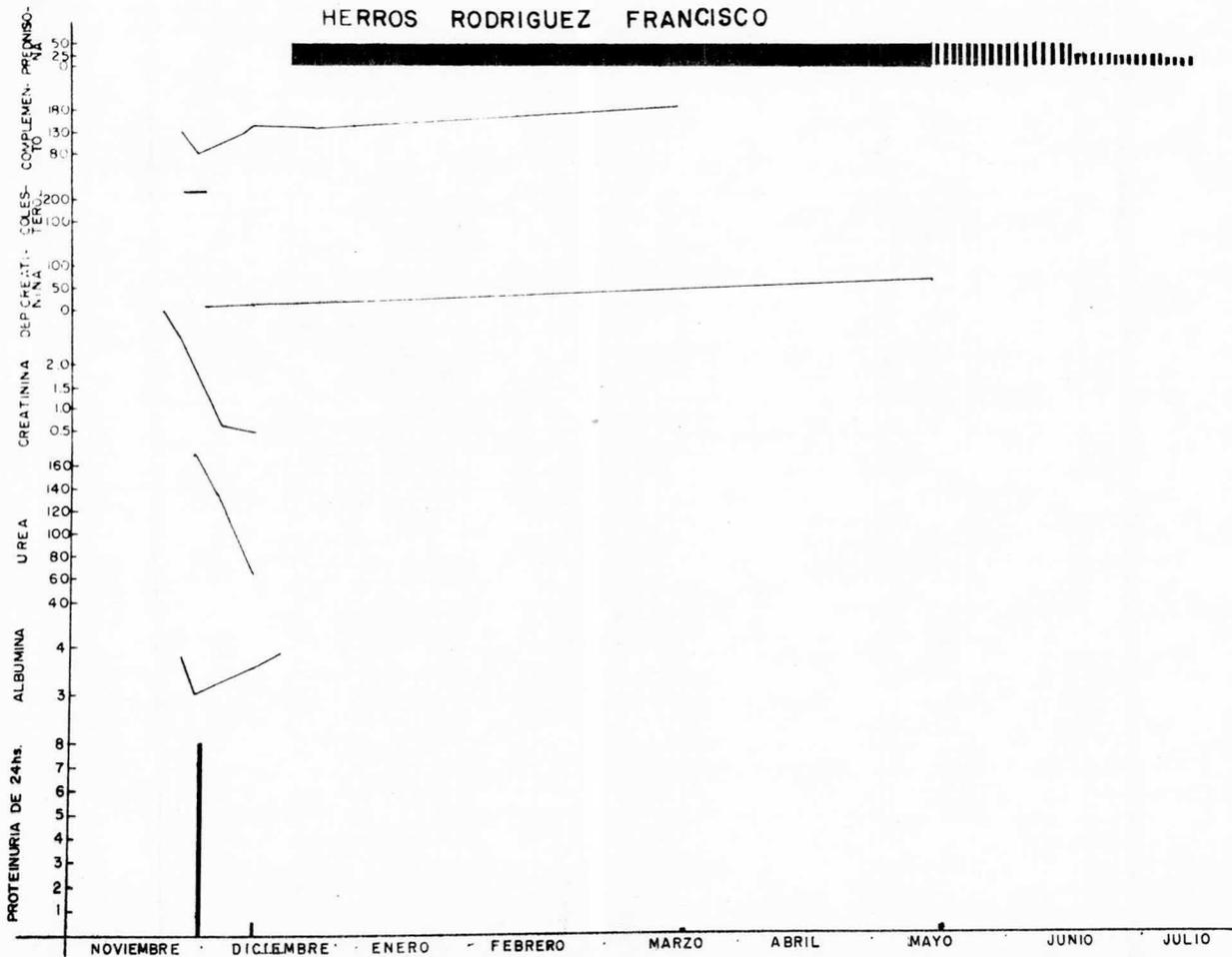
Biopsia: GLOMERULONEFRITIS MEMBRANO-PROLIFERATIVA.- Los fragmentos observados contienen aproximadamente 6 glomérulos, los cuales presentan acentuada proliferación intracapilar de células endoteliales y mesangiales, en 2 glomérulos se observa un importante componente de proliferación extra capilar. En los glomérulos hay esclerosis moderada y en la tinción de meta nina de plata se identifica un doble contorno de la membrana basal capilar, así como disociación y un aspecto fuertemente teñido de todas las membra- nas basales capsulares y tubulares. El estudio de inmunofluorescencia reve la muy escasos depósitos de IgM, IgA e IgG y depósitos abundantes de com plemento en capilares y en el mesangio.

Urograffa excretora: escasa concentración y eliminación en relación a la in- suficiencia renal. Siluetas renales aumentadas de tamaño compatible con -- glomerulonefritis. Mínima esplenomegalia.

Paciente masculino con evolución de su padecimiento que data de 6 años cuyo órgano de ataque fué la piel (con lesiones vesiculares, costras hemá- ticas y cicatrices en la cara) que aunado al padecimiento renal se sospechó de lupus eritematoso diseminado, el cual se descartó por probable porfiria. El padecimiento renal data de 2 meses antes de su ingreso con la siguiente sintomatología: hematuria, oliguria, edema e hipertensión, siendo tratado - con antihipertensivos. Presenta anticuerpos antinucleares, células de LE, - y VDRL negativo, factor reumatoide 1:40; IgG, IgM, IgA elevadas y comple-

mento bajo; presentó anemia, fósforo alto con calcio normal e inversión de albúmina/globulina; retención de urea y creatinina con depuraciones bajas, hematuria, leucocituria, urocultivo negativo y trazas de protefnas. Se inicia tratamiento el 20-XII-75 con prednisona a 50 mg/día hasta el 17-V-76 en -- que se administra cada tercer día por un mes, y 25 mg cada tercer día durante otro mes. El 17-III-76 se le administra clorotiazida para el control de la hipertensión.

HERROS RODRIGUEZ FRANCISCO



L.F.R.

Edad: 10 años.

Sexo: masculino.

Biopsia: Se realizaron dos:

8-XII-75: NEFRITIS INTERSTICIAL Y GLOMERULONEFRITIS FOCAL.- En el cam po se observan 8 glomérulos que muestran aumento de la matriz mesangial - focal, hay en algunos de ellos cariorrexis, áreas de necrosis fibrinoide e - infiltrado inflamatorio mononuclear escaso en el intersticio. En la immuno-- fluorescencia se observan depósitos irregulares de IgM y complemento en - los glomérulos, y algunos depósitos de fibrinógeno en el intersticio.

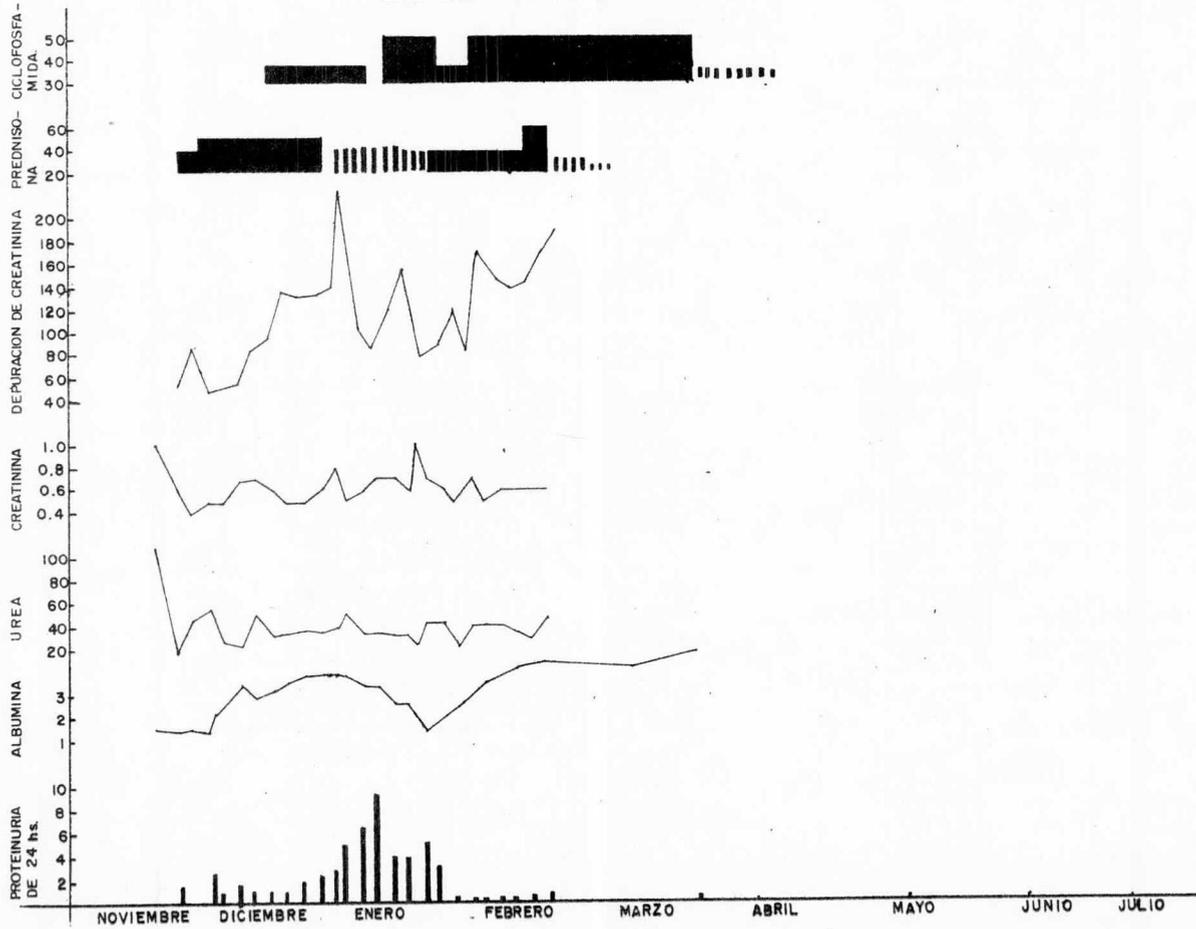
12-II-76: SINDROME NEFROTICO, HIPERPLASIA DE LA MATRIZ MESANGIAL - FOCAL.- Se observan 5 glomérulos con aumento de la matriz mesangial, zo- nas periféricas acelulares; eosinofilia en la luz de los túbulos. Con immuno fluorescencia se observan depósitos irregulares mesangiales de IgG, fibrina, fibrinógeno y complemento.

Urograffa excretora (1975): aumento en el tamaño de los riñones, principal- mente el izquierdo; pobre funcionamiento renal. Importante osteoporosis de las estructuras expuestas.

El padecimiento actual lo inició un año atrás con edemas, siendo visto en el Hospital Infantil de México en donde se le diagnosticó nefrosis lipof- dica con lesiones mínimas. Días antes de su ingreso a IMAN presentaba e- demas y se maneja con prednisona, sin presentar buena evolución; por lo -- que se le agrega ciclofosfamida sin respuesta satisfactoria y se le hace nue va biopsia; se le aumenta ciclofosfamida a 50 mg/día a partir de enero, dis

minuyéndosela por presentar leucopenia e infección de las vías respirato--
rias altas, siendo tratado con ampicilina. A partir del 25 de enero presenta
proteinuria de 1.0 g/24 h . Se le sigue administrando prednisona y ciclofos-
famida, suspendiendo esta última en junio, ya que su proteinuria se encuentra
tra en trazas y la prednisona se va disminuyendo paulatinamente.

LOPEZ FLORES ROBERTO



M.C.E.

Edad: 5 años 3 meses.

Sexo: masculino.

Biopsia: GLOMERULONEFRITIS PROLIFERATIVA INTRACAPILAR.- Se observan 10 a 11 glomérulos aumentados de volumen y con aumento de la celularidad intracapilar, ocasionando obliteración de capilares; hay también hiperplasia de la matriz mesangial; en la luz de los túbulos hay abundante material granular eosinofílico. La inmunofluorescencia mostró solamente depósitos de fibrina y fibrinógeno en los capilares.

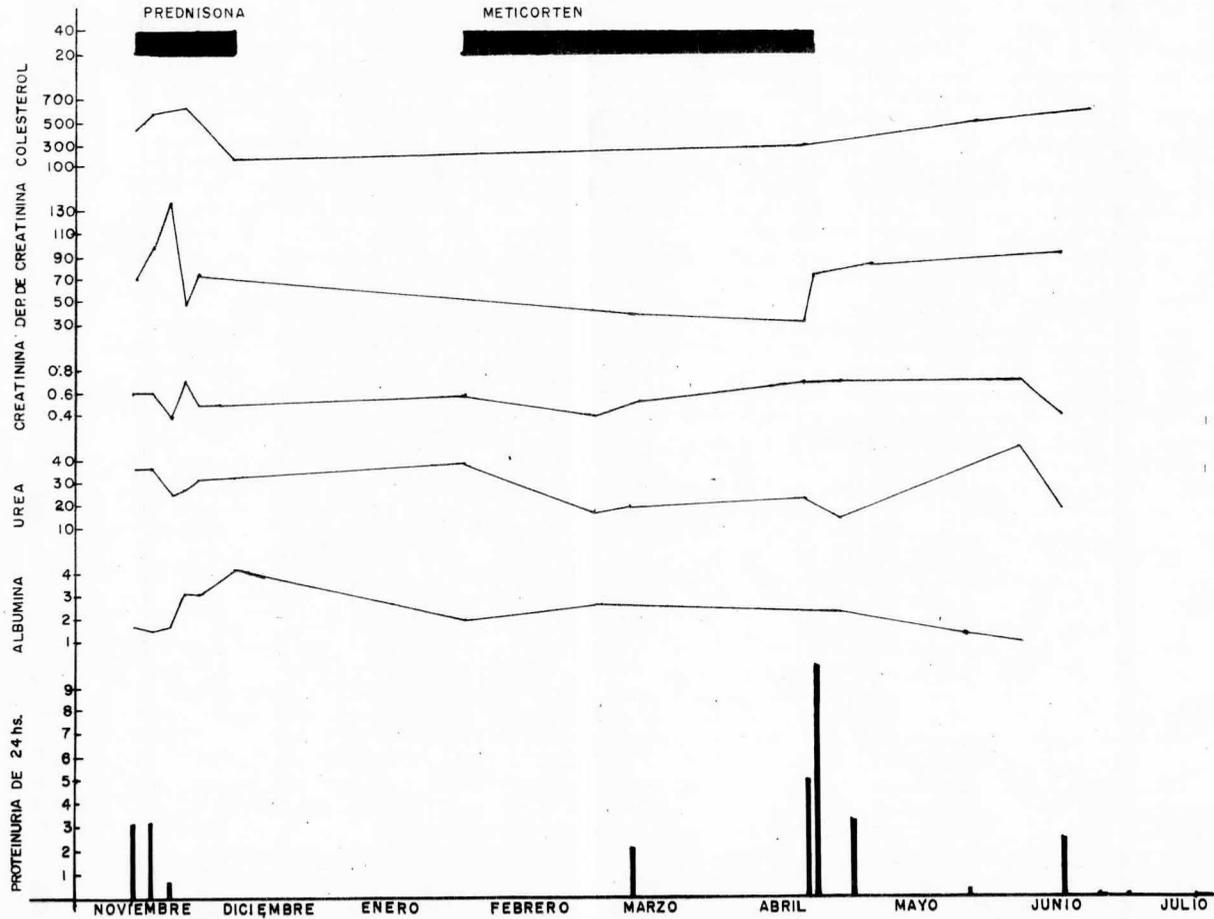
Su padecimiento se inicia con edema hasta anasarca; el 12-XI-75 se administra prednisona a 40 mg/día y furosemide; mejora clínica y químicamente; a partir del 5-I-76 se le indica la misma dosis pero diaria debida a que inicia cuadro gripal, recayendo clínica y químicamente. El 25-II-76 se le presenta gastroenteritis que cede espontáneamente, celulitis del malar (se le administra oxacilina) y faringitis; el 12-III-76 se le da ampicilina y aminofilina por presentar bronquitis asmátiforme. La proteinuria comienza a descender a partir del 9-III-76 y se administra prednisona (40 mg lunes, miércoles y viernes), mejorando químicamente.

Reingresa por recaída, administrándosele 40 mg/día de prednisona (11-IV-76); es dado de alta y el 12-V-76 se aumenta la dosis de prednisona.

Reingresa por tercera vez por peritonitis primaria y recaída, con tratamiento por 10 días con lincomicina y suspensión de esteroides por 10 días, los cuales se reinician el 9-VI-76 a 45 mg/día. El 21-VI-76 es visto en consulta externa considerándose en remisión de síndrome nefrótico, y se i-

nicia ciclofosfamida a 50 mg diarios. El 22-VII-76 presenta proteinuria de -
cero, continuando con prednisona en dosis de 45 mg/24 h, presenta buena -
evolución.

MAGAÑA CUEVAS ENRIQUE



M. M. C.

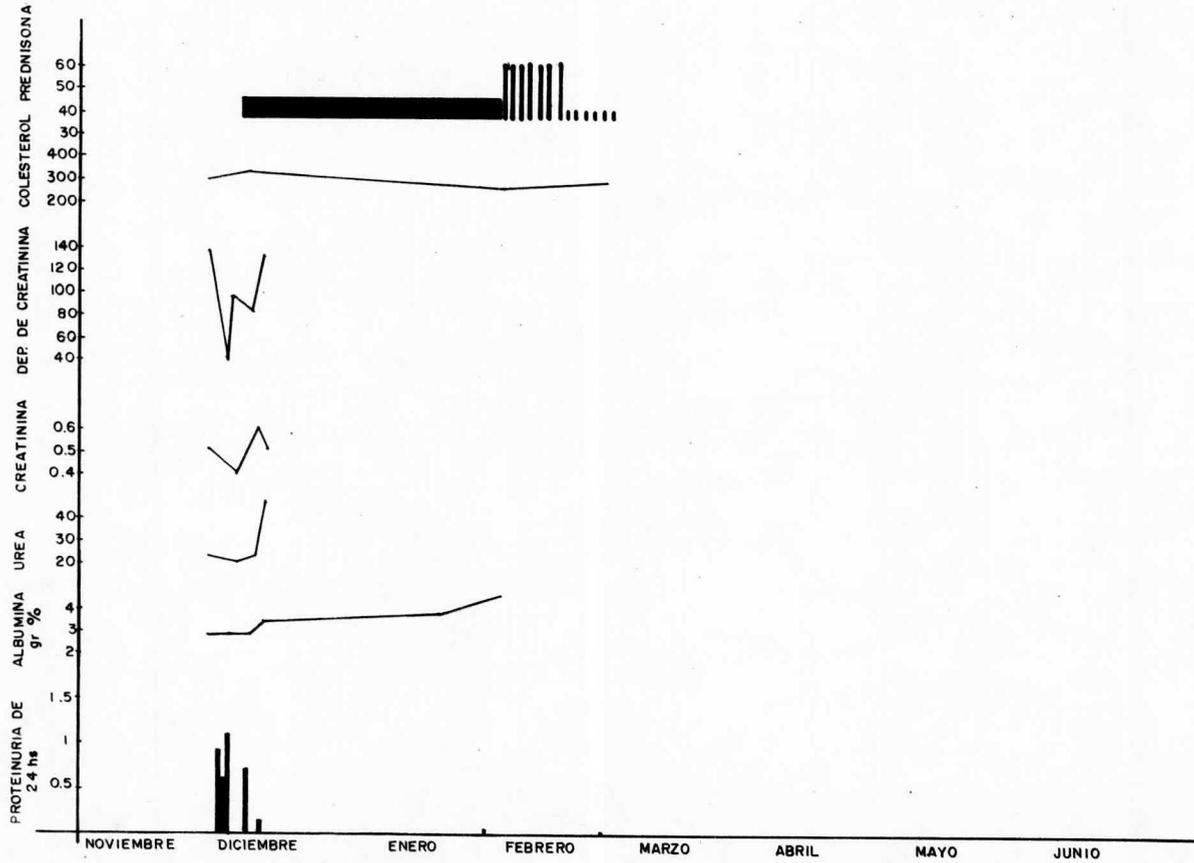
Edad: 5 años.

Sexo: masculino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO.- Se observan lesiones glomerulares mínimas.

Padecimiento actual de 4 años de evolución (desde 1 año de edad), presentando edema, oliguria y decaimiento, por lo que ha estado hospitalizado en diversas instituciones donde recibió esteroides por tiempos no especificados pero discontinuos, y por lo tanto con exacerbaciones y remisiones. - Se le hicieron dos biopsias en el Hospital 20 de Noviembre del ISSSTE con reporte de lesiones mínimas glomerulares. Al ser dado de alta (12-XII-75) - después de 13 días de hospitalización, estaba asintomático sin edema, normotenso y sólo con áreas de celulitis en el dedo lo. del pié derecho (recibiendo oxacilina). Recibió durante 40 días 40 mg de prednisona y posteriormente 60 mg alternos por un mes y 40 mg alternos por otros por otros dos para suspenderlos posteriormente. Su evolución es satisfactoria encontrándose actualmente asintomático, sin edemas y sin proteinuria (2-VI-76); está sin medicamentos. El examen general de orina del 2-VII-76 reporta cero de proteinuria. Continúa sin tratamiento.

MALDONADO MARTINEZ CARLOS



M.A.P.

Edad: 20 meses.

Sexo: masculino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO.- El examen de las laminillas - revela cortes gruesos del parénquima renal, que muestran alteraciones irregulares en los glomérulos, que consisten en aumento focal y segmentario - de la matriz mesangial, con proliferación focal de las células mesangiales; los túbulos se encuentran ocupados por material proteináceo. Glomérulos - con cambios mínimos compatibles con nefrosis lipofídica.

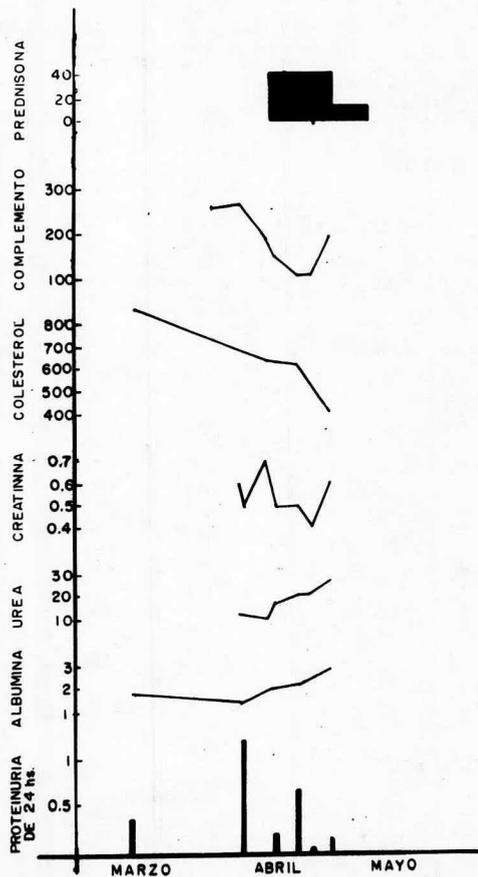
Urografía excretora: normal.

El padecimiento actual lo inició en agosto de 1975 con orina de aspecto oscuro y un mes después edema palpebral e infección de vías aéreas superiores; recibe manejo no especificado, siendo tratado posteriormente por nefrólogo con remisiones y exacerbaciones. Es visto en IMAN el 12-III-76 en anasarca, con diarrea y tos concomitante, desnutrición de segundo grado - mixto, por laboratorio y clínica se confirma el diagnóstico de síndrome nefrótico lipofídico. Su evolución intrahospitalaria fué hacia la mejoría, desapareciendo el cuadro infeccioso de las vías aéreas superiores y la diarrea (se aisló E. coli poli A 0111:B4 y poli B 0124:B17 y Salmonella grupo B). El urocultivo reportó 100,000 colonias de Proteus sp. y 100,000 de Estreptococo gamma hemolítico, no recibiendo tratamiento; también se aisló Estreptococo beta hemolítico en faringe. Para la diarrea recibió por 4 días ranamicina.

Una vez controlados todos los procesos infecciosos se inició predniso-

na (14-IV-76) a 40 mg diarios; el 14o. día se disminuye la dosis a 10 mg --
diarios. Mejora clínicamente y por exámenes de laboratorio.

MORALES ARCEDO PASCUAL



M.P.M.

Edad: 5 años 10 meses.

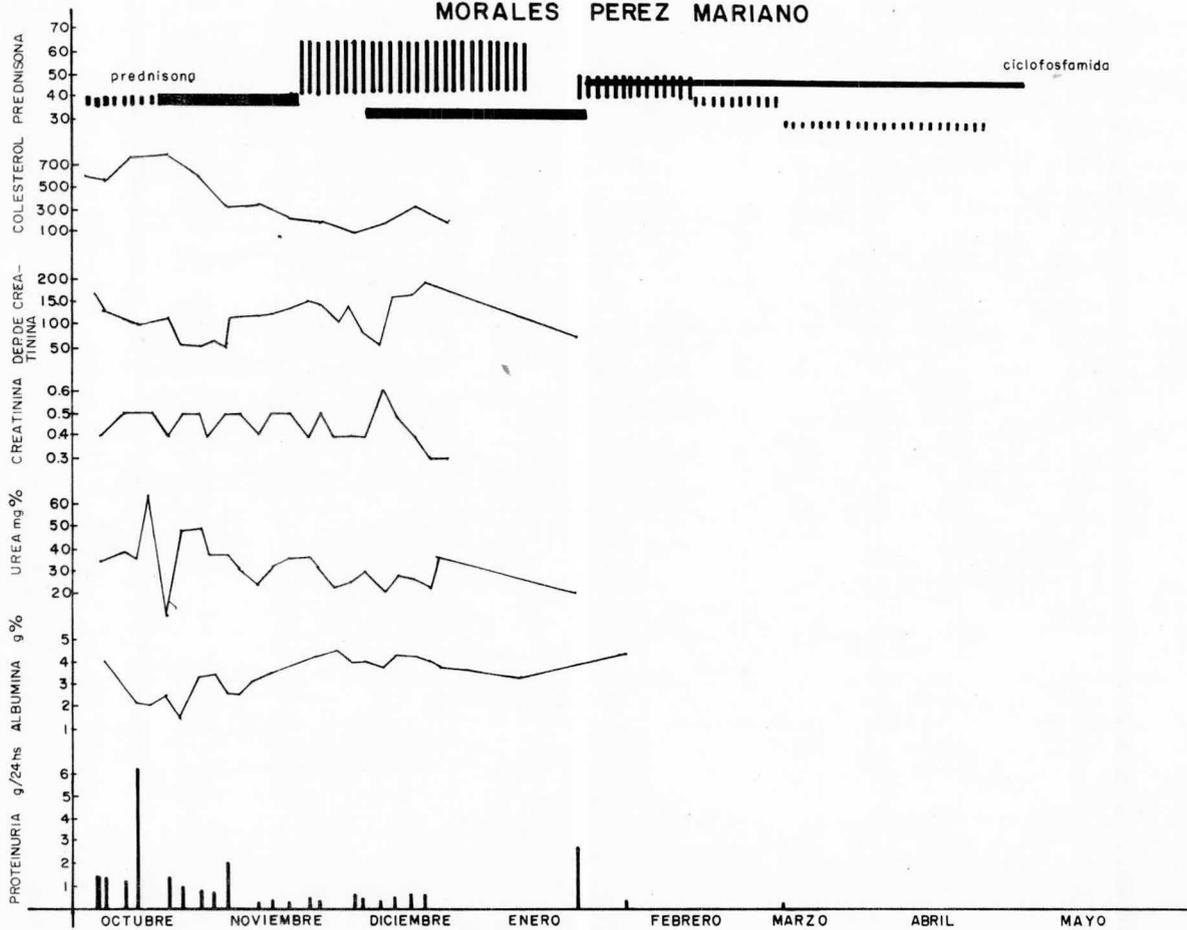
Sexo: masculino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO.- Fragmento corticomedular con 8 glomérulos aumentados de volumen, con hiper celularidad dada por hiperplasia mesangial mínima, congestión de los capilares glomerulares, apreciándose material eosinófilo en el espacio de Bowman y en los túbulos. No existen lesiones en otras áreas; las tinciones especiales no muestran alteraciones.

Inicia su padecimiento desde el 1-VII-72. Su evolución fué irregular, -- sin respuesta adecuada por falla en el tratamiento con medicamentos e infecciones interrecurrentes: otitis, bronconeumonía, bronquitis, gripes, diarreas. Ha tenido ingresos previos desde 1972, siendo el último el 22-IX-75 -- por una celulitis orbitaria izquierda secundaria a una extracción de pieza dentaria y manifestaciones de peritonitis primaria. Por presencia de anasarca se inició tratamiento con prednisona y plasma fresco con mejoría lenta -- hasta la segunda quincena de octubre con desaparición de edemas, del problema infeccioso y con buen estado general. Recibió durante un mes 45 mg por día de prednisona, continuándose con 65 mg en días alternos, como la respuesta a los esteroides no era buena se le administró ciclofosfamida -- (37 mg/día). Fué presentando una mejoría progresiva con disminución de -- proteinuria, por lo que se le fué reduciendo la dosis de los esteroides hasta suspenderse en marzo los esteroides y en abril la ciclofosfamida. Actualmente está sin medicamentos, siendo controlado con exámenes generales de orina, siendo este último de 19.5 mg% de proteínas, sin eritrocitos,

ni cilindros. Recibió dicloxacilina en el servicio de otorrinolaringología el 18-IV-76 por otitis crónica superior del oído izquierdo. El 14-VIII-76 presen tó trazas de proteinuria.

MORALES PEREZ MARIANO



P.R.M.

Edad: 6 años 5 meses.

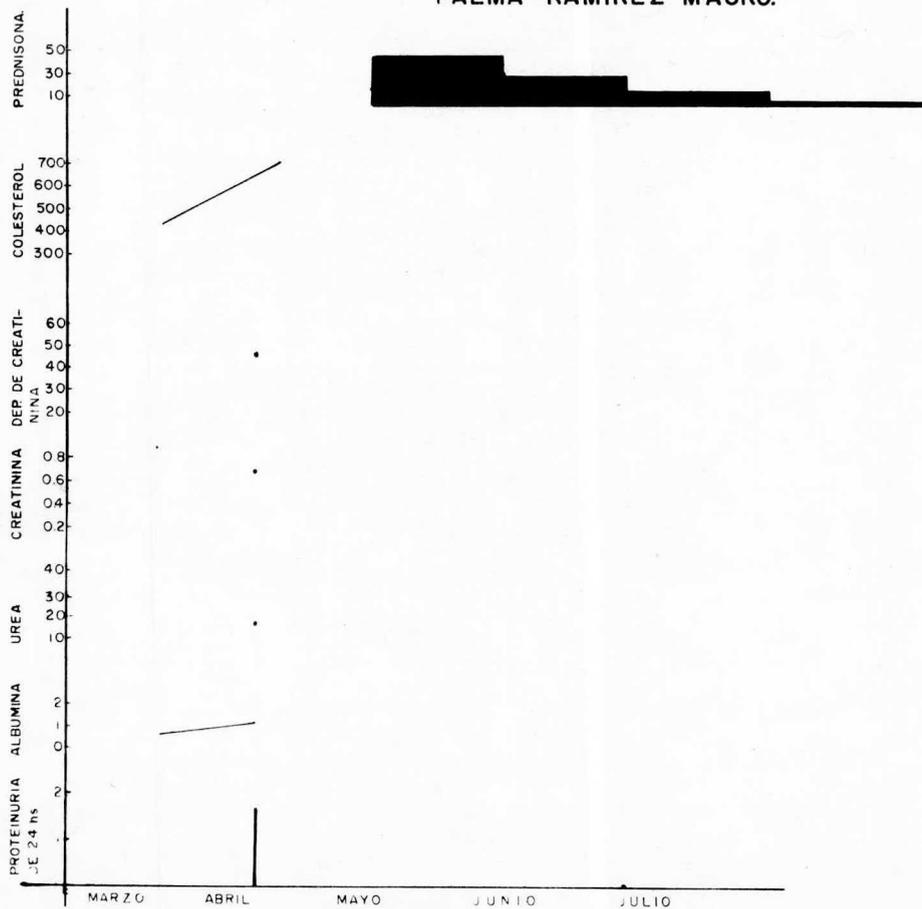
Sexo: masculino.

Biopsia: GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA.- Biopsia renal -- con 6 glomérulos que muestran aumento de la matriz mesangial, engrosamiento focal de la membrana basal (P.A.S.) y en 2 glomérulos se encuentra un - segmento hialino, con adherencias a la cápsula, se tiñe de azul con el ma-
sson. Se observan vasos e intersticios sin alteraciones. Los túbulos presentan material eosinófilo en la luz y además gotas de P.A.S. en el epitelio, - La inmunofluorescencia demostró acúmulos irregulares + a ++ segmentarios de IgM, IgA, fibrina, fibrinógeno y complemento.

Urograffa excretora (28-IV-76): sugiere moderada nefromegalia bilateral, el resto normal.

Inicia su padecimiento con edema en miembros inferiores y cara, reci-
bió medicación no especificada, persistiendo con los edemas, los cuales -
progresan hasta anasarca el día que ingresó a IMAN. La biopsia del 6-VI--
76 confirma el diagnóstico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria, por
lo que se inician esteroides a 45 mg diarios durante un mes, reduciéndose
a 30 mg por día. Durante su estancia intrahospitalaria se encontró con die-
ta total en líquidos (600 ml), en protefnas (120 g), sodio (500 mg), y rica -
en potasio, 1600 calorías y furosemide; logrando mejoría clínica con dismini
ción de los edemas. El 7-VI-76 se encuentra sin edemas, normotenso, -
con cushing y en convalecencia de varicela sin complicaciones y se le --
disminuye la prednisona a 30 mg por día. El 5-VII-76 presenta trazas de --
proteinuria y se disminuye la dosis de esteroides.

PALMA RAMIREZ MAURO.



R.B.A.

Edad: 8 años 9 meses.

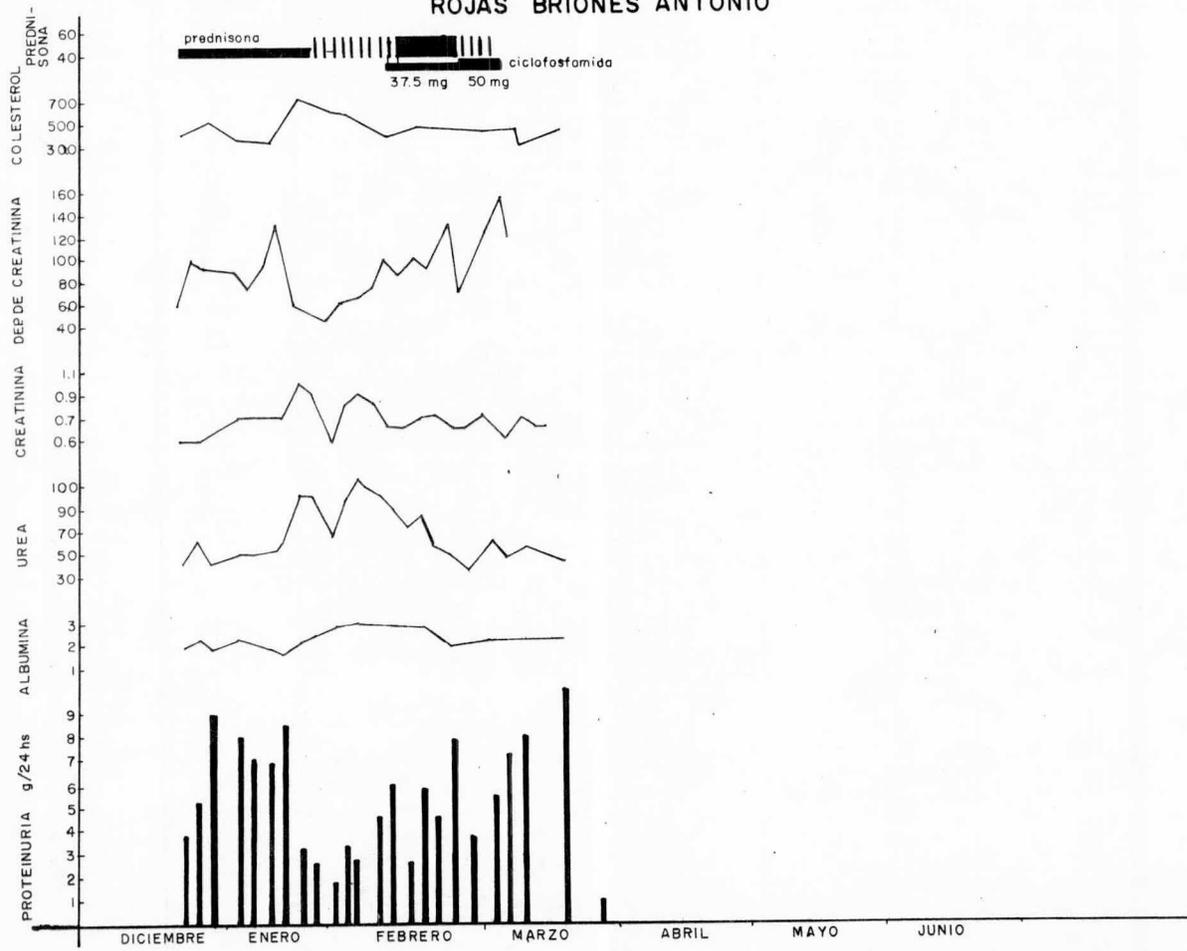
Sexo: masculino.

Biopsia: GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL.- Se observan los glomérulos con áreas focales de esclerosis pequeñas; hay abundante material proteico en la luz tubular, algunos túbulos muestran células con signos de regeneración. Hay un área con discreta fibrosis intersticial.

Inicia su padecimiento en diciembre de 1974 con edema generalizado, -- siendo tratado con penicilina por cuadros frecuentes de amigdalitis. Fué internado por primera vez el 17-XI-75 por peritonitis primaria, gastroenteritis y desnutrición de tercer grado; siendo monitorizado radiológicamente y por cirugía, no ameritando intervención quirúrgica. Recibió tratamiento con esteroides por un mes a 50 mg/día y otro mes a 60 mg . Debido a que no hubo mejoría por la persistencia de hipertensión, proteinuria y eritrocituria, y -- con el reporte de la biopsia efectuada el 30-I-76 (variedad de mal pronóstico), se decidió administrar ciclofosfamida diariamente durante un mes y posteriormente alterno.

Continúa con mala evolución: hipertenso, con hematuria y proteinuria; continúa con ciclofosfamida, con disminución de prednisona, con furosemide y se aumentó la dosis de alfa metil dopa.

ROJAS BRIONES ANTONIO



T.L.S.L.

Edad: 4 años.

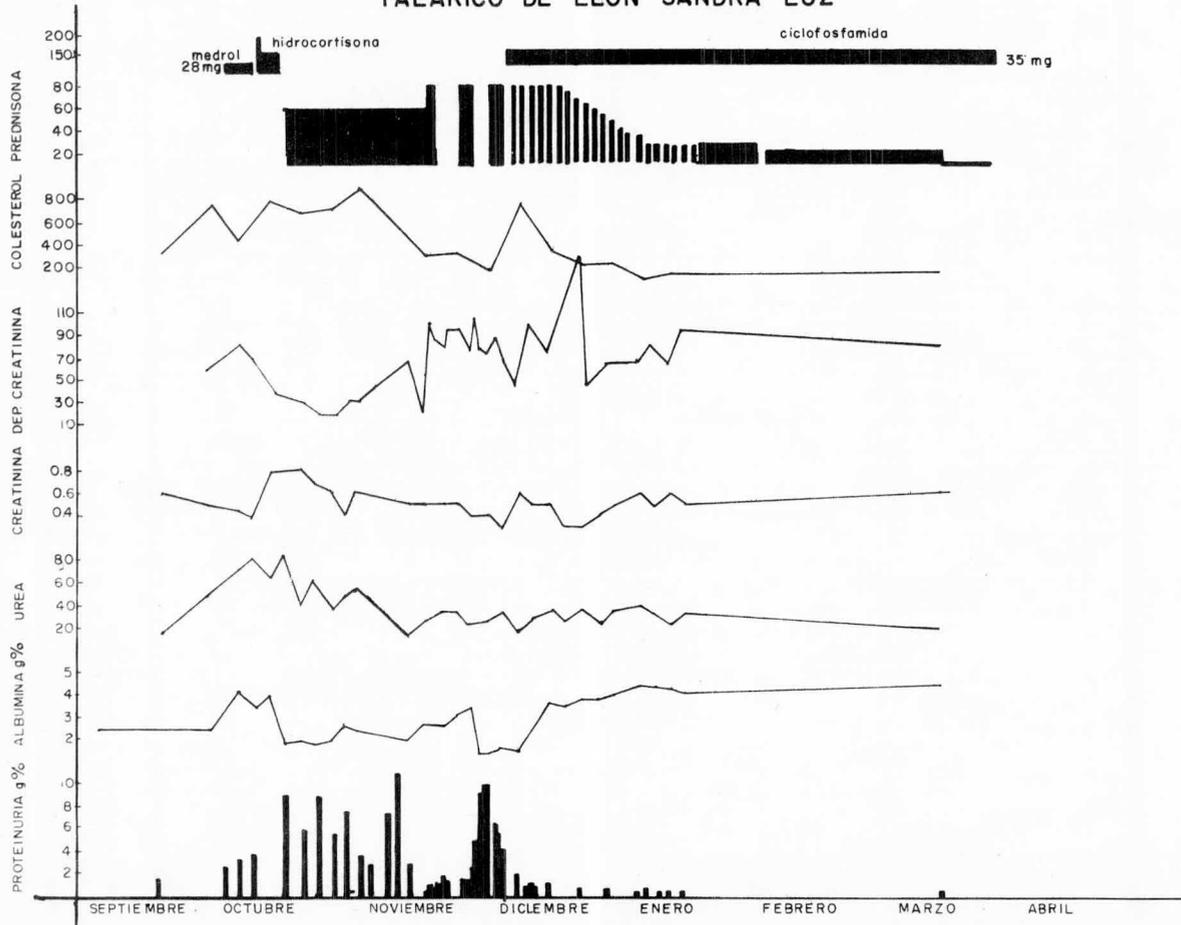
Sexo: femenino.

Biopsia: SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO.- Se identifican aproximadamente 20 glomérulos, los cuales muestran en forma focal proliferación mesangial que afecta a algunos glomérulos; en los túbulos se aprecia escaso material proteináceo (en el citoplasma); así como en la luz. No hay fibrosis glomerular y no se aprecian cambios membranosos.

Paciente con desarrollo psicomotor alterado, con cuadros enterales frecuentes y en junio de 1975 presentó varicela. Inicia su padecimiento en enero del 75 con edemas progresivos hasta anasarca, siendo manejada con esteroides (15 a 20 mg al día), furosemide (15-20 mg) evolucionando con remisiones y exacerbaciones (siempre normotensa). Del 11-V-75 al 1-VI-75 se interna en el Hospital Infantil de México donde se maneja con prednisona y furosemide. Reingresa del 16 al 26 de agosto de 1975, donde se le practicó biopsia renal reportándose síndrome nefrótico corticorresistente, continuando su control en forma irregular, por lo que acude a IMAN donde se interna. Presentando peritonitis primaria, se aisló H. influenzae, por lo que se le administró ampicilina. Como además estaba parasitada (H. nana, T. trichura, G. lamblia) se le da mebendazol, y metronidazol. El 3-X-75 se inicia con metil prednisolona por 7 días, cambiándose a hidrocortisona por 5 días por exacerbación de la peritonitis, continuando con prednisona a 60 mg diarios (también se le aplicó haemacel y plasma fresco en varias ocasiones)- con mejoría clínica; continuando a 80 mg diarios de prednisona por 4 días

alternados con 3 días de descanso. No hubo buena respuesta ya que la proteinuria fluctuaba entre 4 a 9 g diarios, por lo que se decide cambiar el esteroide a ciclofosfamida. Se disminuye la prednisona de 80 a 30 mg/48 h -- con mejoría en las cifras de proteinuria, aunque ésta persistía (200 a 400 - mg) y normalización de la albúmina y colesterol. En diciembre cursó con lesión del 3er. dedo de la mano izquierda (se machucó con la puerta), por lo que se le dió antibiótico durante 10 días, presentando evolución satisfactoria. Así mismo presentó urocultivo positivo a Proteus (100,000 colonias) y se le dió 14 días de cefalosporina, habiendo cursado siempre asintomática. Se da de alta el 17-I-76 asintomática, normotensa, sin infección, con biometría hemática normal al igual que electrolitos, y sale con ciclofosfamida (37 mg diarios), prednisona (30 mg/48 h), hidróxido de aluminio y dieta especial. Al mes presentó infección de las vías aéreas superiores, por lo que se indica penicilina, y se disminuye la prednisona a 20 mg/48 h; continuando con proteinuria de 156 mg/24 h . Después de cursar un mes con prednisona a dosis de 20 mg/48 h se disminuye a 10 mg/48 h (12-III-76) durante 5 semanas y se suspende (25-IV-76), ya que va evolucionando bien; la ciclofosfamida se suspende el 25-IV-76. Evoluciona sin edemas, el examen general de orina reportó sólo 7 mg% de proteinuria, continúa asintomática - (2-VI-76).

TALARICO DE LEON SANDRA LUZ



Z.G.H.

Edad: 2 años 3 meses.

Sexo: masculino.

Biopsia: HIPERPLASIA MESANGIAL MINIMA, COMPATIBLE CON NEFROSIS LIPOIDICA.- Se identifican numerosos glomérulos, la mayor parte de los cuales muestran cambios proliferativos intracapilares mínimos y aumento moderado de la matriz mesangial. No hay datos de esclerosis glomerular. La estructura de la membrana basal está conservada, en el intersticio se aprecian moderados cambios inflamatorios. El examen con inmunofluorescencia revela depósitos de complemento en la luz de los túbulos muy escasos y ocasionales en el mesangio de los glomérulos. La inmunofluorescencia para IgA, IgM e IgE es negativa.

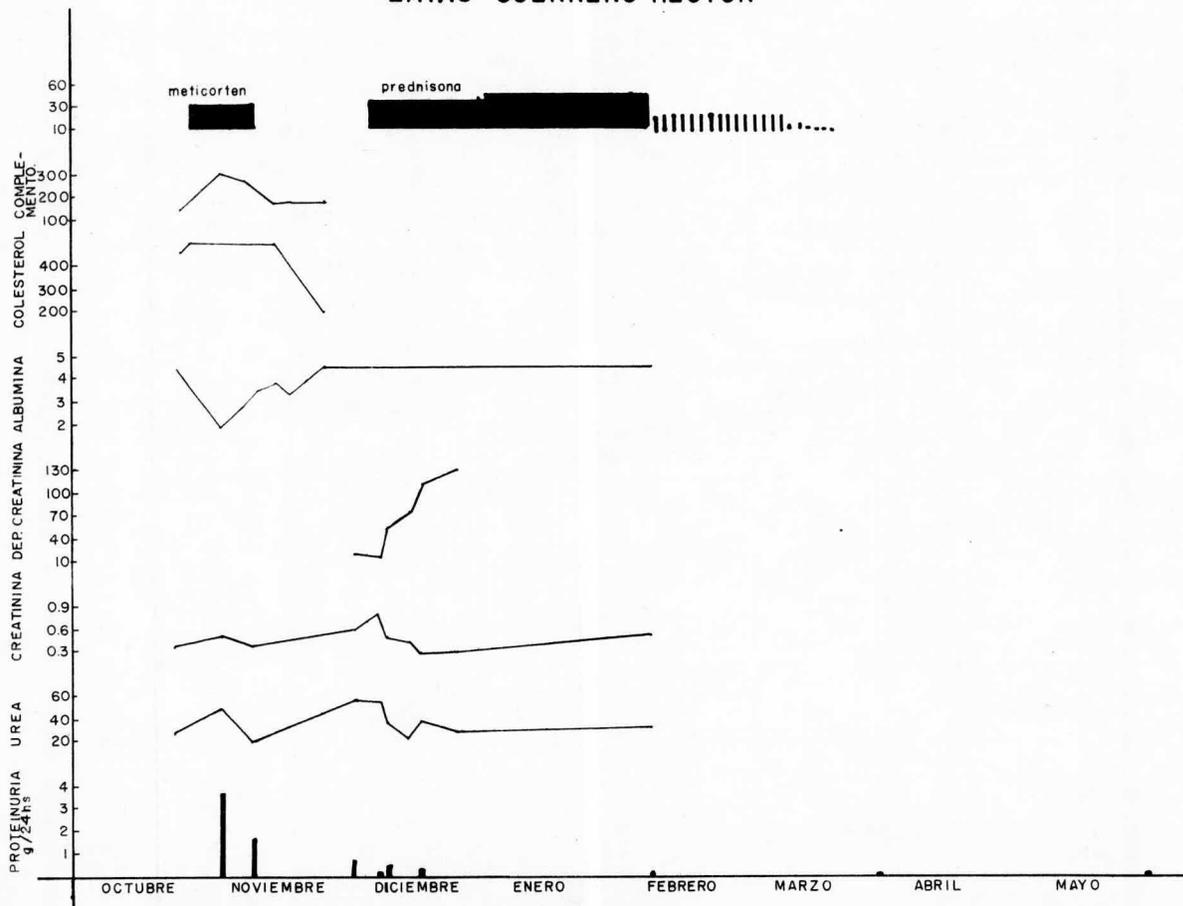
Urografía excretora (5-XII-75): normal.

El padecimiento actual es de 3 meses con edemas generalizados, sin antecedentes de mala alimentación ni infección. Acude por primera vez a consulta en octubre de 1975, iniciándole tratamiento con 35 mg al día de prednisona. No recibe adecuadamente el medicamento extrahospitalariamente y nuevamente presenta edemas, por lo que se le interna. En su internamiento se comprueba el diagnóstico clínico, químico y por biopsia renal de síndrome nefrótico lipóidico. Se inicia el tratamiento con prednisona (35 mg/día), con mejoría clínica y química por lo que se le da de alta el 19-XII-75. Durante consulta externa se le da clorosalicilamida por presentar himenolepiasis. El 26-I-76 se disminuyen los esteroides a 20 mg cada tercer día, el 7-IV-76 a 10 mg los lunes, miércoles y viernes, el 7-V-76 se --

suspenden. Actualmente cursa sin proteinuria y sin medicamentos (7-VII-76).
El examen general de orina del 3-VIII-76 mostró 2.5 mg% de protefnas en -
orina.

NOTA.- El resumen de las historias clínicas se realizó con la ayuda de la -
doctora Ina Quevedo.

ZAYAS GUERRERO HECTOR



CAPITULO V.

RESULTADOS.

A) DETERMINACION CUANTITATIVA DE PROTEINAS TOTALES EN ORINA.

PACIENTE:	TOMA DE MUESTRA	mg%	VOL. URINARIO (ml/24 h)	mg/24 h
G.Z.M.	11-XII-75	558.5	371.5	2,074.82
	11-IV-76	1358.75	300.0	4,076.25
	22-IV-76	2590.0	80.2	2,077.0
H.H.E.	26-II-76	167.0	463.6	774.21
H.R.F.	11-XII-75	45.0	813.19	366.25
L.P.R.	11-XII-75	100.0	1018.7	1,018.7
M.C.E.	12-IV-76	10428.0	80.0	8,342.4
M.M.C.	11-XII-75	24.0	589.8	141.5
M.A.P.	7-II-76	1488.2	258.6	3,848.48
M.P.M.	24-XI-75	50.0	508.11	254.05
	11-XII-75	70.0	759.56	531.83
P.R.M.	30-IV-76	496.6	864.0	4,290.62
R.B.A.	23-XII-75	277.5	1370.3	3,802.58
	9-II-76	785.7	858.1	6,742.09
	1-III-76	790.7	874.1	6,911.5
T.L.S.L.	24-XI-75	152.5	669.7	1,021.29
	11-XII-75	175.0	480.35	840.61
Z.G.H.	11-XII-75	13.5	215.0	29.02

B) DETERMINACION CUANTITATIVA DE PROTEINAS SERICAS INDIVIDUALES.

MUESTRA:	ALBUMINA (mg%)	IgG (mg%)	IgM (mg%)
G.Z.M. ₁	2089.56	664.32	147.09
G.Z.M. ₂	426.70	99.43	192.0
G.Z.M. ₃	531.66	188.0	185.29
H.H.E.	698.25	477.97	469.36
H.R.F.	1906.86	3200.20	123.30
L.F.R.	1604.22	379.09	109.69
M.C.E.	1474.45	834.87	135.15
M.M.C.	1944.35	161.09	144.69
M.A.P.	756.22	260.55	165.74
M.P.M. ₁	2896.11	700.33	174.95
M.P.M. ₂	2794.45	842.26	182.83
P.R.M.	641.50	285.79	234.37
R.B.A. ₁	787.09	598.14	130.31
R.B.A. ₂	1547.07	311.58	86.35
R.B.A. ₃	1620.91	420.29	96.51
T.L.S.L. ₁	1944.35	500.94	182.83
T.L.S.L. ₂	1211.06	239.23	215.56
Z.G.H.	2033.00	881.72	190.76

DETERMINACION CUANTITATIVA DE PROTEINAS URINARIAS INDIVIDUALES.

MUESTRA:	ALBUMINA (mg%)	IgG (mg%)	IgM (mg%)
G.Z.M. ₁	369.7	6.81	-
G.Z.M. ₂	811.4	22.63	-
G.Z.M. ₃	1408.20	78.12	-
H.H.E.	149.89	8.11	-
H.R.F.	22.39	8.51	-
L.F.R.	56.42	2.17	-
M.C.E.	7041.0	150.90	-
M.M.C.	15.8	0.86	-
M.A.P.	1177.24	16.54	1.4
M.P.M. ₁	46.05	0.71	-
M.P.M. ₂	40.64	1.33	-
P.R.M.	455.5	33.31	-
R.B.A. ₁	115.57	24.18	-
R.B.A. ₂	468.22	19.11	-
R.B.A. ₃	285.3	17.94	-
T.L.S.L. ₁	72.89	2.35	-
T.L.S.L. ₂	107.6	5.13	0.83
Z.G.H.	7.77	0.86	-

A L B U M I N A

MUESTRA:	VOL. URINARIO ml/min	SUERO mg/ml	ORINA		DEPURACION ml/min
			mg/ml	mg/min	
G.Z.M. ₁	0.258	20.895	3.697	0.953	0.0456
G.Z.M. ₂	0.208	4.267	8.114	1.690	0.3961
G.Z.M. ₃	0.055	5.316	14.080	0.782	0.1471
H.H.E.	0.321	6.982	1.498	0.482	0.0699
H.R.F.	0.565	19.060	0.223	0.126	0.0066
L.F.R.	0.707	16.04	0.564	0.399	0.0248
M.C.E.	0.055	14.744	70.410	3.911	0.2652
M.M.C.	0.409	19.440	0.158	0.064	0.0033
M.A.P.	0.179	7.562	11.722	2.114	0.2796
M.P.M. ₁	0.352	28.96	0.46	0.162	0.0056
M.P.M. ₂	0.527	27.94	0.409	0.214	0.0076
P.R.M.	0.600	6.415	4.555	2.73	0.4260
R.B.A. ₁	0.951	7.87	1.155	1.099	0.1397
R.B.A. ₂	0.607	15.47	4.68	2.845	0.1839
R.B.A. ₃	0.595	16.206	2.853	1.700	0.1048
T.L.S.L. ₁	0.465	19.44	0.728	0.339	0.0174
T.L.S.L. ₂	0.333	12.11	1.075	0.358	0.0296
Z.G.H.	0.149	20.33	0.077	0.011	0.0005

INMUNOGLOBULINA G.

MUESTRA:	SUERO mg/ml	ORINA mg/ml mg/min		DEPURACION ml/min	% DE DEP./ DEP. DE ALB.
G.Z.M. ₁	6.643	0.068	0.017	0.0026	5.78
G.Z.M. ₂	0.994	0.226	0.047	0.0474	11.96
G.Z.M. ₃	1.881	0.781	0.043	0.0231	15.67
H.H.E.	4.779	0.081	0.026	0.0054	7.9
H.R.F.	32.0	0.085	0.048	0.0015	22.65
L.F.R.	3.79	0.021	0.153	0.004	16.27
M.C.E.	8.348	1.509	0.083	0.010	3.78
M.M.C.	1.610	0.008	0.003	0.0021	65.41
M.A.P.	2.605	0.165	0.029	0.0114	4.07
M.P.M. ₁	7.00	0.007	0.0025	0.0003	6.37
M.P.M. ₂	8.42	0.013	0.007	0.0008	10.85
P.R.M.	2.857	0.333	0.199	0.0699	16.41
R.B.A. ₁	5.98	0.242	0.231	0.0384	27.53
R.B.A. ₂	3.115	0.191	0.116	0.0372	20.40
R.B.A. ₃	4.202	0.179	0.106	0.0254	24.5
T.L.S.L. ₁	5.01	0.023	0.011	0.0021	12.50
T.L.S.L. ₂	2.39	0.051	0.017	0.0071	24.13
Z.G.H.	8.82	0.008	0.001	0.0001	25.52

INMUNOGLOBULINA M.

MUESTRA:	SUERO mg/ml	ORINA mg/ml	mg/min	DEPURACION ml/min	% DE DEP./ DEP. DE ALB.
M.A.P.	1.657	0.014	0.002	0.0015	0.54
T.L.S.L. ₂	2.15	0.008	0.0027	0.0012	4.3

C) DETERMINACION DEL ANGULO DE SELECTIVIDAD DE PROTEINURIA.

PACIENTE:	FECHA	PENDIENTE m	ANGULO (θ)
G.Z.M.	11-XII-75	3.33	73.3°
	11-IV-76	2.48	68.0°
	22-IV-76	2.16	65.2°
H.H.E.	26-II-76	2.96	71.4°
H.R.F.	11-XII-75	2.47	68.0°
L.F.R.	11-XII-75	2.12	64.7°
M.C.E.	12-IV-76	3.82	75.3°
M.M.C.	11-XII-75	0.49	26.5°
M.A.P.	7-II-76	1.89	62.2°
M.P.M.	24-XI-75	3.21	72.8°
	11-XII-75	2.59	69.0°
P.R.M.	30-IV-76	5.13	79.0°
R.B.A.	23-XII-75	1.5	56.4°
	9-II-76	1.65	59.0°
	1-III-76	1.86	61.8°
T.L.S.L.	24-XI-75	2.43	67.6°
	11-XII-75	1.18	49.8°
Z.G.H.	11-XII-75	1.59	58.0°

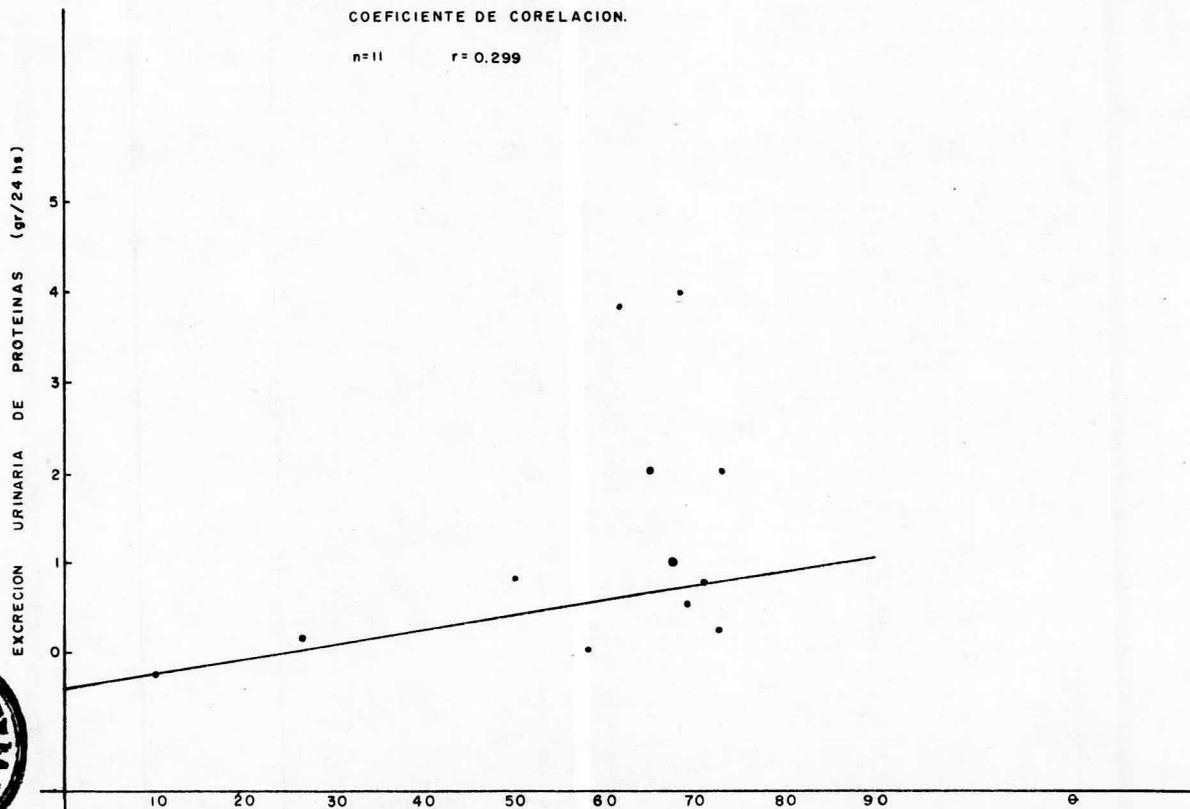
D) METODO ESTADISTICO.

MUESTRA:	X	Y ₁	Y ₂	Y ₃
	Θ	Dep. creat.	proteinuria 24 h	número de re- caídas.
G.Z.M. ₁	73.3°	80.14	2.07	3
G.Z.M. ₂	68.0°	68.89	4.07	3
G.Z.M. ₃	65.2°	18.66	2.07	3
H.H.E.	71.4°	98.63	0.77	1
H.R.F.	68.0°	14.03	0.36	1
L.F.R.	64.7°	86.67	1.01	1
M.C.E.	75.3°	29.31	8.34	2
M.M.C.	26.5°	133.48	0.14	1
M.A.P.	62.2°	120.07	3.84	1
M.P.M. ₁	72.8°	142.43	0.25	1
M.P.M. ₂	69.0°	142.82	0.53	1
P.R.M.	79.0°	46.5	4.29	1
R.B.A. ₁	56.4°	59.58	3.80	1
R.B.A. ₂	59.0°	49.02	6.74	1
R.B.A. ₃	61.8°	124.18	6.9	1
T.L.S.L. ₁	67.6°	91.12	1.02	1
T.L.S.L. ₂	49.8°	96.82	0.84	1
Z.G.H.	58.0°	58.78	0.02	1

SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO

COEFICIENTE DE CORELACION.

n=11 r= 0.299



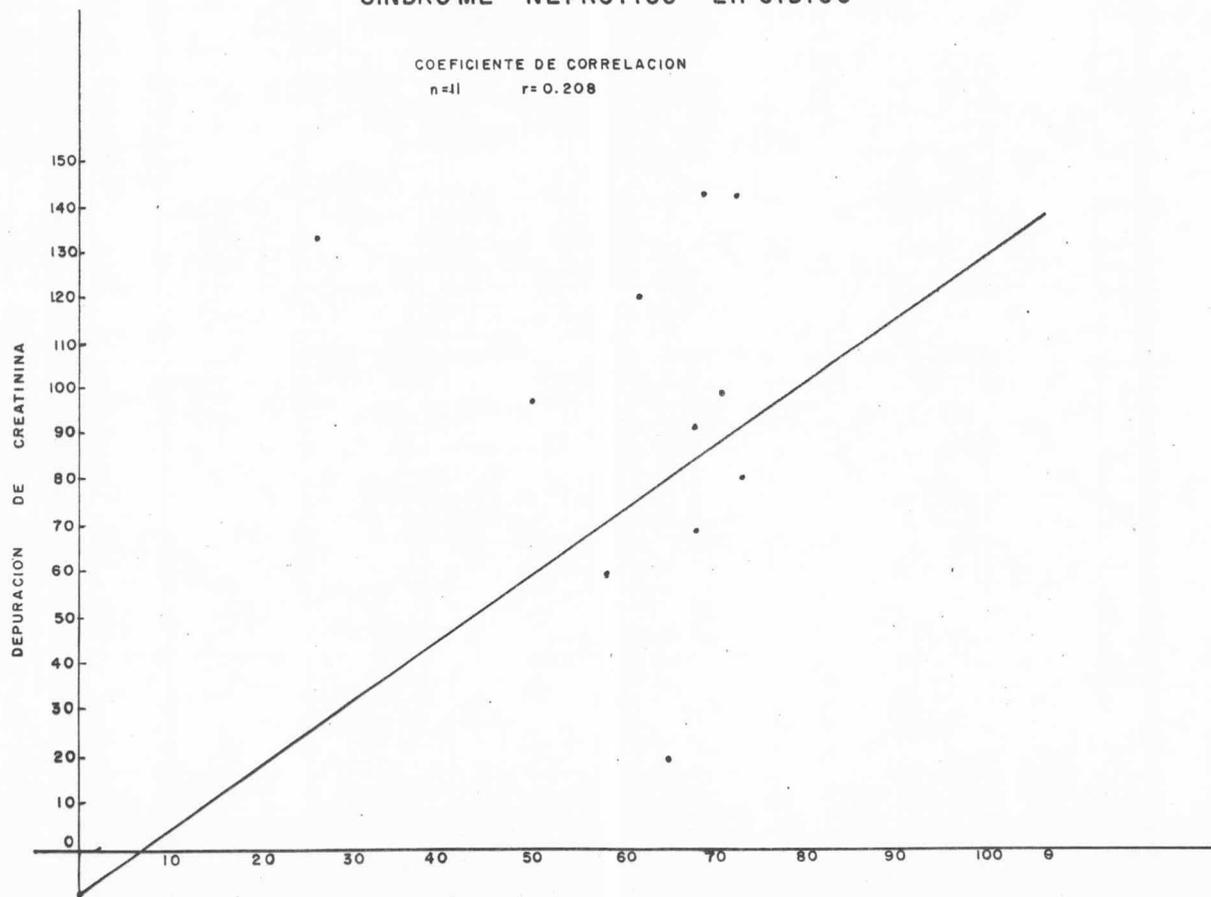
QUINIO



SINDROME NEFROTICO LIPOIDICO

COEFICIENTE DE CORRELACION

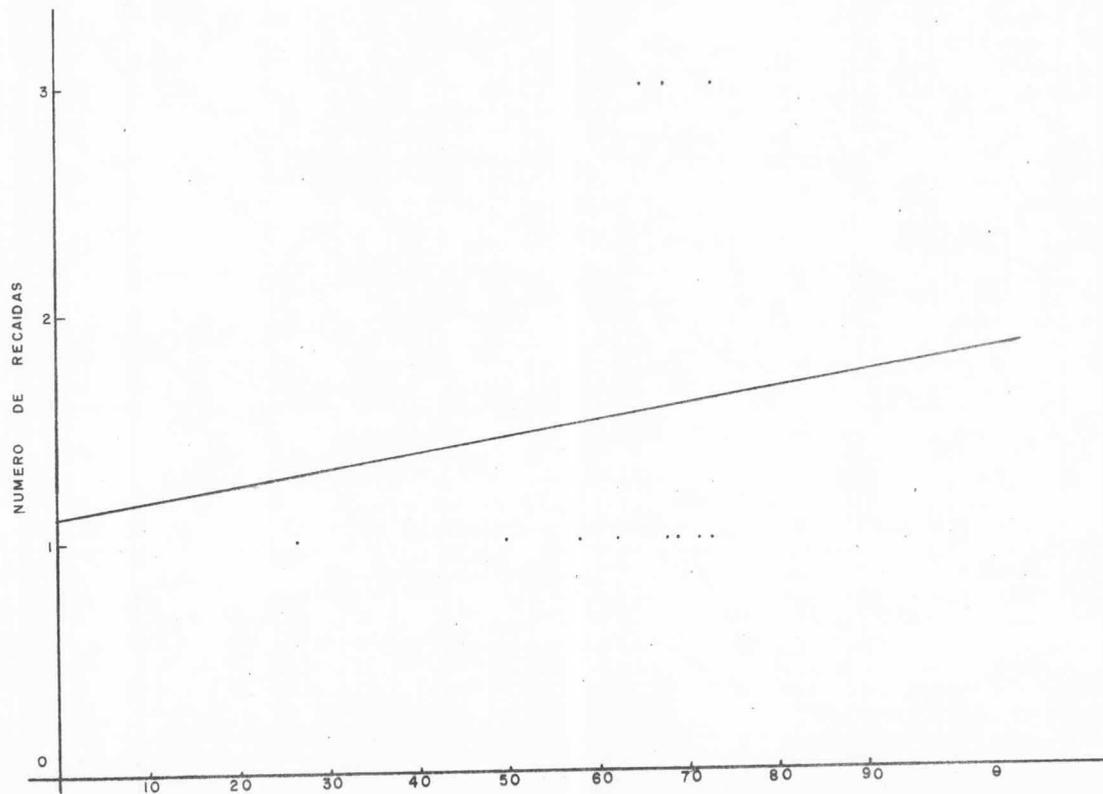
n=11 r= 0.208



SINDROME NEFROTICO LIPOIDEO

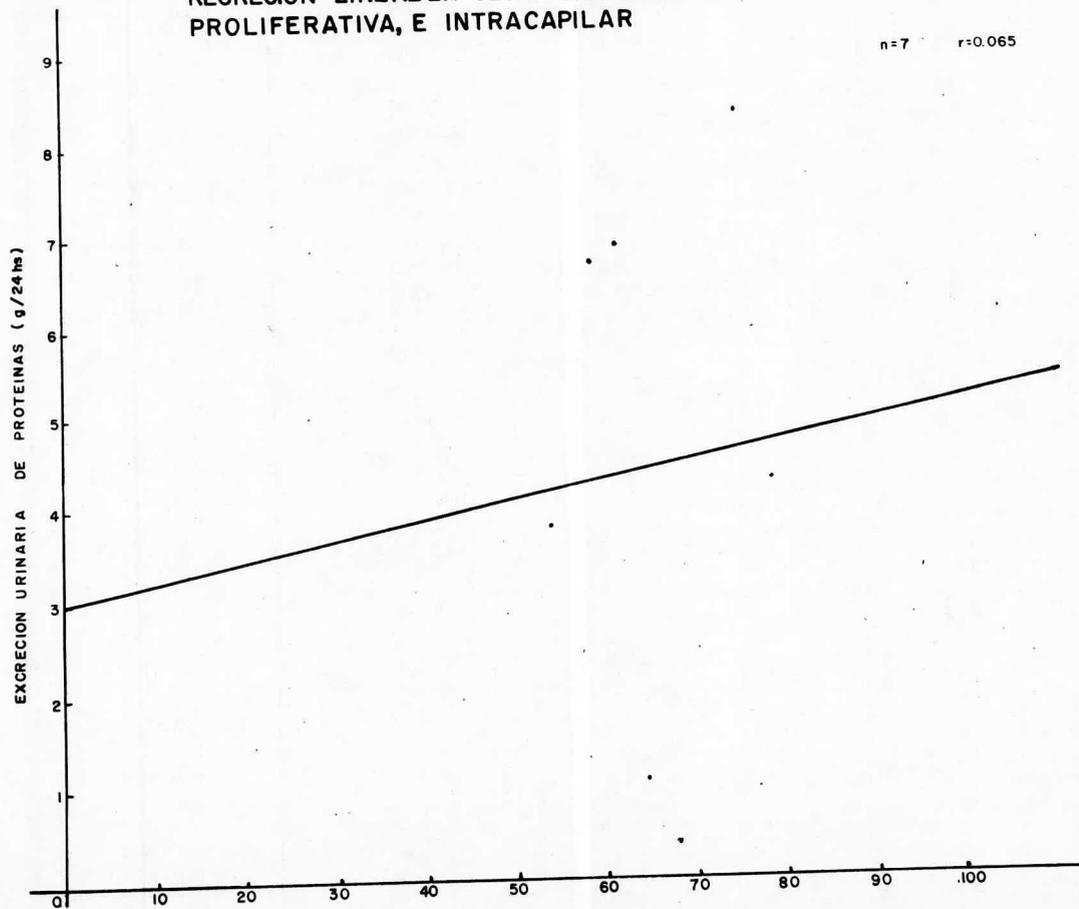
COEFICIENTE DE CORRELACION

n=11 r= 0.284



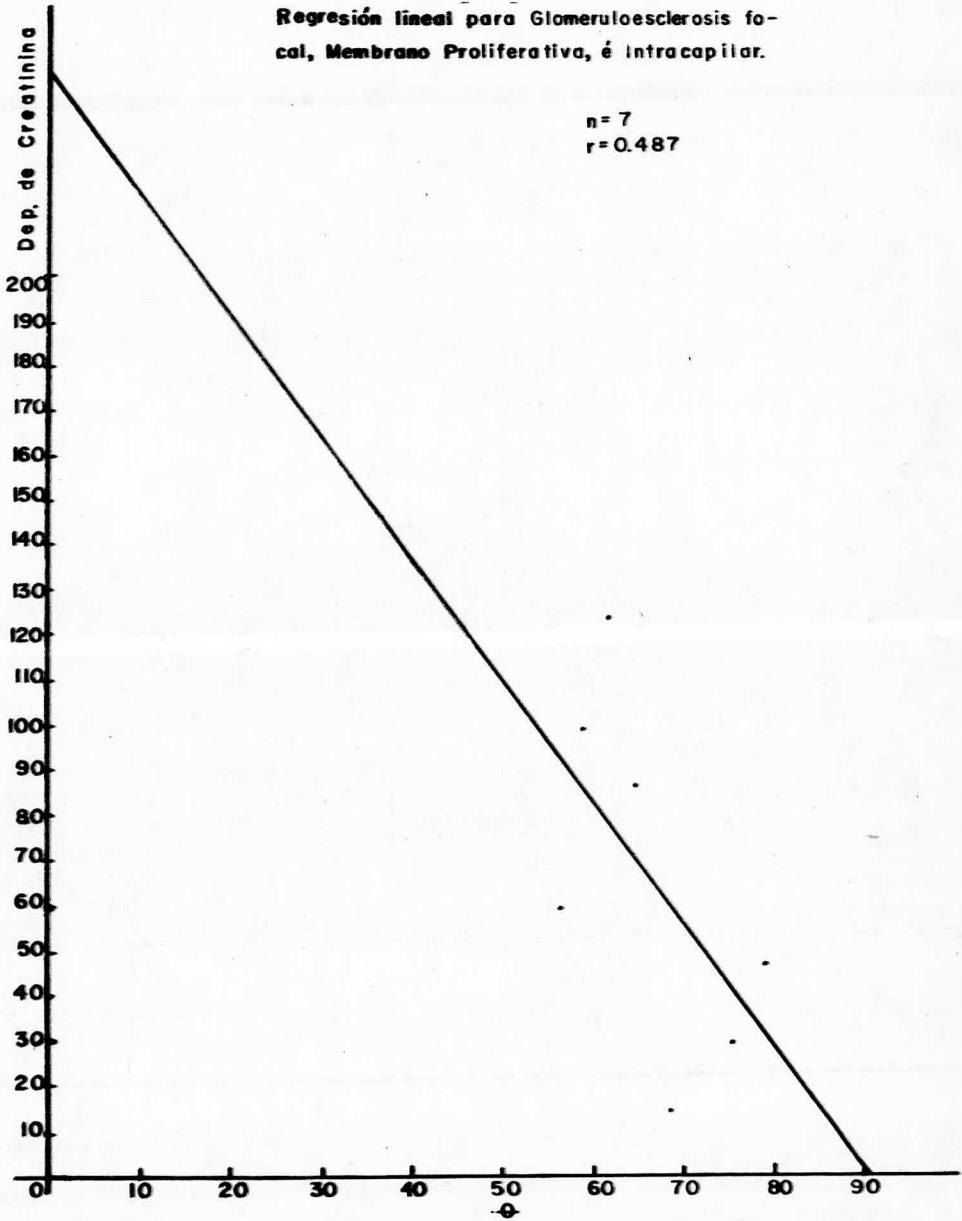
REGRESION LINEAL EN GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL, MEMBRANA
PROLIFERATIVA, E INTRACAPILAR

n=7 r=0.065

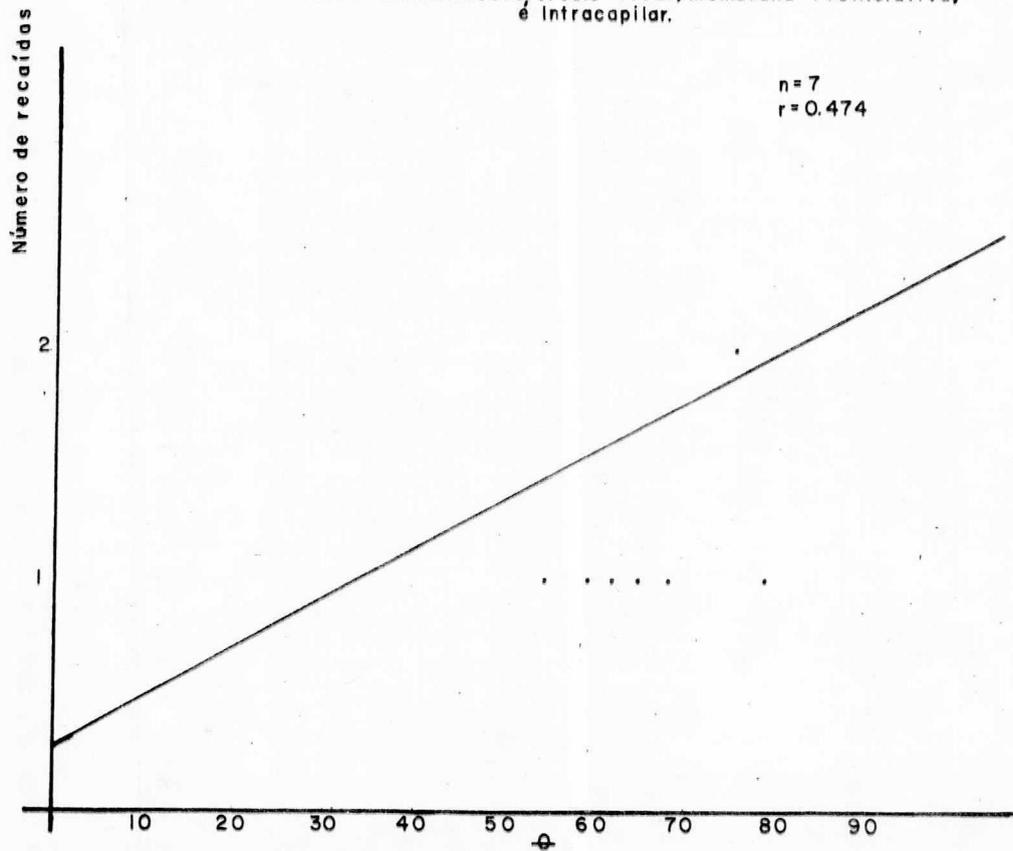


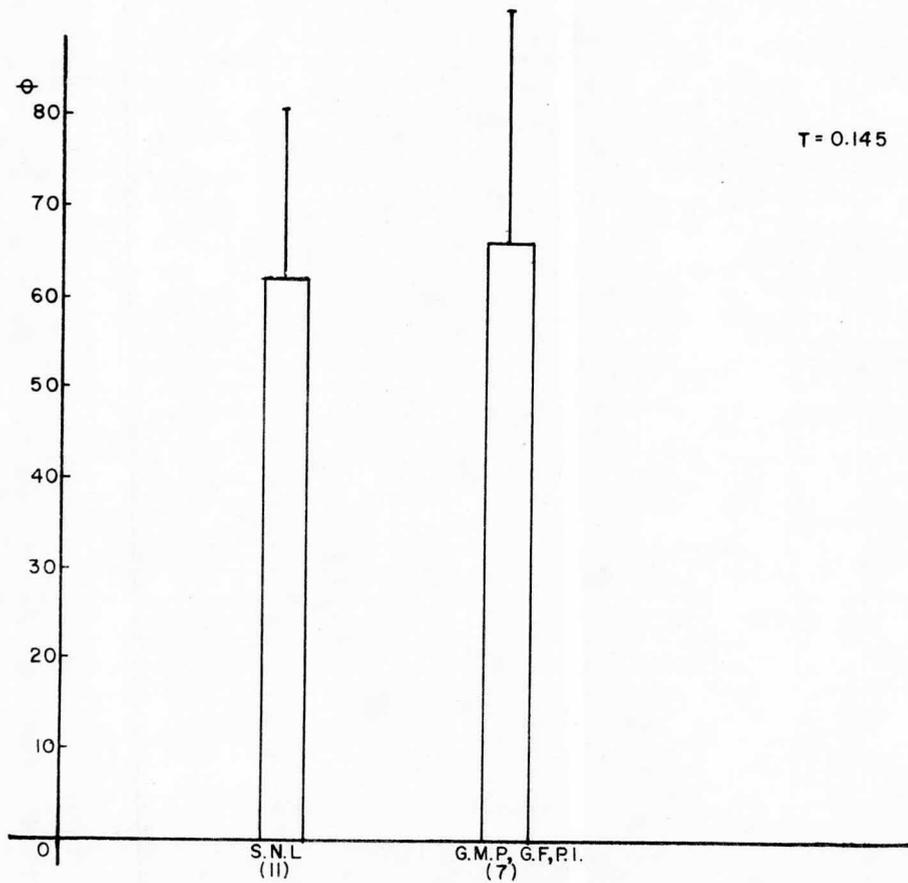
Regresión lineal para Glomeruloesclerosis focal, Membrano Proliferativa, é Intracapilar.

n = 7
r = 0.487



Regresión lineal en Glomeruloesclerosis focal, Membrana Proliferativa,
e Intracapilar.





CAPITULO VI.

DISCUSION.

En este trabajo decidimos determinar la selectividad de proteinuria empleando 3 proteínas que abarcaran un rango grande de pesos moleculares, - por lo que usamos: albúmina (peso molecular de 67,000), IgG (peso molecular de 160,000) e IgM (peso molecular de 900,000). Empleamos la técnica - de inmunodifusión radial simple de Mancini, usando inmunoplasmas comerciales, por considerarla adecuada para nuestros propósitos, ya que nos permite cuantificar con exactitud deseada las cantidades de proteínas que analizamos. No fué necesario concentrar las muestras de orina, ya que la sensibilidad de las inmunoplasmas comerciales era adecuada para nuestro propósito; más aún en los casos de determinación de albúmina y de IgG urinarias - tuvimos que diluir algunas muestras, ya que su concentración estaba elevada.

Tomando en cuenta los valores reportados por J. Cameron y R. White - (26) para niños nefróticos que presentaban alta selectividad cuando $\Theta = 70^\circ$ y baja selectividad para Θ menor de 70° , en los resultados obtenidos en este trabajo debe hacerse notar lo siguiente:

Dentro del grupo de pacientes que presentaron síndrome nefrótico lipofídico, algunos presentaron un ángulo de selectividad de proteinuria que está de acuerdo con la evolución del padecimiento, como son:

- a) G.Z.M. - Presentó una disminución de su ángulo de selectividad (73° ; 68° y 65°), lo que indica recaída del síndrome nefrótico y esto está de acuerdo - con los datos clínicos y de laboratorio.
- b) H.H.E. - Su ángulo fué de 71.4° que está de acuerdo con la buena evolución que presentó.

c) M.P.M.- Presentó dos ángulos: 72.8° y 69° , que aunque se le aplicó ciclofosfamida por tener recaídas, su evolución fué buena.

En tanto que otros pacientes presentaron un ángulo de selectividad que no está de acuerdo con la evolución de sus padecimientos, como son:

a) M.M.C.- Su ángulo fué de 26.5° , sin embargo presenta buena evolución y cursa actualmente sin medicamentos.

b) M.A.P.- Su ángulo fué de 62.2° y tuvo buena evolución, aunque presentó hipertensión y complemento bajo en suero.

c) T.L.S.L.- Se le determinaron dos ángulos: 67.6° y 49.8° . Presentó buena evolución, aunque tardía, ya que se le tuvo que administrar ciclofosfamida.

d) Z.G.H.- El ángulo que presentó fué de 58° y sin embargo presentó muy -- buena evolución, pues a los 3 meses de iniciado el tratamiento con prednisona, la proteinuria desapareció.

En el grupo de los pacientes con glomerulonefritis, también se observaron algunos que presentaron un ángulo de selectividad que está de acuerdo a su evolución, como son:

a) H.R.F.- Su ángulo fué de 68° y tiene mal pronóstico, presenta hipertensión y eritrocituria, además presenta urea elevada.

b) L.F.R.- Ángulo de 64.7° . Por histología presenta mal pronóstico, aunque de acuerdo a los datos de laboratorio va mejorando, hay la posibilidad de -- que con el tiempo tenga mala evolución.

c) E.B.A.- Se le determinaron 3 ángulos: 56.4° , 59° y 61.8° . Este paciente presentó mala evolución.

Así mismo otros pacientes con glomerulonefritis tuvieron un ángulo de -

selectividad de proteinuria que no está de acuerdo a la evolución de su padecimiento, y son:

- a) M.C.E.- Angulo de 75.3° . Presenta mala evolución por tratarse de una glomerulonefritis proliferativa intracapilar.
- b) P.R.M.- Angulo de 79° . Mala evolución por presentar glomerulonefritis focal segmentaria.

Por otro lado es de hacerse notar que en todos los estudios realizados con anterioridad a este tema, las muestras empleadas de pacientes con proteinuria presentaban más de 1 g/24 h de proteínas en orina y ninguno trabajó con muestras de orina que presentaran una cantidad menor. En este trabajo se utilizaron muestras con menos de 1 g/24 h de proteinuria, y sin embargo los resultados obtenidos con estas muestras no difieren de los que presentaban proteinuria de más de 1 g/24 h. Lo cual indica que probanablemente no es necesario que se tengan muestras con proteinuria de más de 1 g/24 h para obtener valores óptimos de este ángulo de selectividad.

Algunos autores apoyan que el ángulo de selectividad no varía ni con la cantidad de proteinuria ni con el tiempo (23), sin embargo nosotros tuvimos una variación de este ángulo en pacientes a los que se les hicieron varias determinaciones.

Además encontramos que únicamente dos niños excretaban IgM en orina, los cuales presentan lesiones mínimas; resultados similares fueron reportados por M. Bardare, G.U.Cislaghi (28).

En base a la interpretación estadística podemos comentar:

1.- Gráficas del Coeficiente de Correlación de la depuración de creatinina -

vs. el ángulo de selectividad (Θ).- Para el grupo de pacientes con síndrome nefrótico lipóidico, su gráfica muestra que a mayor depuración de creatinina el ángulo Θ es mayor, lo cual pudiera indicar que en los niños nefróticos con mayor selectividad de proteinuria se obtiene una depuración más alta de creatinina, lo que mostraría una mejor evolución. Por otro lado, la gráfica del grupo de los pacientes con glomerulonefritis de diversos tipos, muestra que a menor depuración de creatinina se obtiene un ángulo de selectividad de proteinuria mayor, por lo que el ángulo Θ no se correlaciona con los valores de depuración de creatinina, aunque puede suceder que a pesar de que la depuración de creatinina disminuya, las nefronas que quedan sin alteración puedan filtrar selectivamente.

2.- Gráficas de Coeficiente de Correlación de la excreción urinaria de proteínas (g/24 h) vs. el ángulo de selectividad (Θ).- Tanto en la gráfica del grupo de pacientes con glomerulonefritis de diversos tipos como el grupo de pacientes con síndrome nefrótico lipóidico, se observa que a mayor excreción de proteinuria se tiene un ángulo de selectividad mayor, lo cual podría indicar que la cantidad de proteinuria es independiente del ángulo de selectividad obtenido, como lo afirman otros autores (25).

3.- Gráficas del Coeficiente de Correlación del número de recaídas vs. el ángulo de selectividad Θ .- De estas gráficas se puede observar, que en ambos grupos, el número de recaídas no depende del ángulo de selectividad, porque en el síndrome nefrótico la imagen histológica no cambia, ya que si hay lesiones mínimas aunque haya varias recaídas no se agudizan las lesiones.

Al aplicar la fórmula t de Student se observa que el ángulo Θ no depende de la severidad del daño renal según los estudios histológicos, ya que el valor de t que obtuvimos (0.145) es menor del valor $t \geq 2.12$, estadísticamente significativos.

Por lo que se concluye que no hay correlación del ángulo de selectividad (Θ) con la severidad del daño renal según los estudios histológicos, ni con otros datos de tipo clínico, ni con los datos de laboratorio.

RESUMEN.

Se estudiaron 12 pacientes pediátricos con síndrome nefrótico por medio de biopsia renal, química sanguínea y depuración de proteínas urinarias, la cual se hizo por el método de inmunodifusión radial simple de Mancini. Se trató de correlacionar la evolución clínica y los hallazgos histopatológicos de la biopsia renal con el ángulo Θ de la depuración de proteínas. Los hallazgos de este trabajo muestran que este ángulo de selectividad de proteinuria no correlacionó con los datos clínicos y de laboratorio, ni con la imagen histopatológica de los pacientes estudiados. Más aún, parece ser que llegamos a las mismas conclusiones que R. Barcelo y V.E. Pollak (31). No se encontró explicación alguna para esta falta de correlación, pero parece ser que problemas similares han sido encontrados por otros autores (28).

CONCLUSION.

A partir de nuestros resultados podemos concluir que no parece de gran ayuda el determinar el ángulo de selectividad de proteinuria (Θ) en los pacientes con daños renales, en base a que resultara útil para el pronóstico del padecimiento, ni tampoco para pronosticar la respuesta a esteroides en estos pacientes, ya que estadísticamente probamos que este ángulo de selectividad no correlacionó con los datos clínicos, ni con los de laboratorio, ni con la imagen histológica.

BIBLIOGRAFIA.

- 1) ROWE D.S. and SOOTHILL J.F.: Serum proteins in normal urine. *Clin. Sci.*, 21: 75, 1961.
- 2) RIGAS D.A. and HELLER C.G.: The amount and nature of urinary proteins in normal human subjects. *J. Clin. Invest.*, 30: 853, 1951.
- 3) GARRY E. Mc., SEHON A.H. and ROSE B.: The isolation and electrophoretic characterization of the proteins in the urine of normal subjects. *Lancet* 1: 832, 1955.
- 4) WALDMAN T.A., STROBER W. and MOGIENICK I.: The renal handling of low molecular weight proteins. *J. Clin. Invest.*, 51: 2162, 1972.
- 5) ROWE D.S. and SOOTHILL J.F.: The proteins of postural and exercise - proteinuria. *Clin. Sci.*, 21: 87, 1961.
- 6) COYE R.D. and ROSANDICH R.R.: Proteinuria during the 24 hours period following exercise. *J. Appl. Physiol.*, 15: 592, 1960.
- 7) LOUBE V.: Quoted in albuminuria in health. *Lancet* 1: 503, 1878.
- 8) STEWART T.G.: Clinical lectures on important symptoms. *Fasciculus II* on albuminuria. Edinburg, Bell and Bredfute, 1888.
- 9) BLAKE J.B. and LARRABEE R.O.: Observations upon long-distance runners. *Boston Med. Surg.*, 195: 148, 1903.
- 10) COLLIER W.: Albuminuria in athletes. *Brit. Med. J.*, 1: 4, 1907.
- 11) VOLHARD A.: *Handbuch der Inneren Medizin*. 2nd. Ed. , L. Mohor and - R. Staehelin Eds. Berlin, vol. 6, 854. 1931.
- 12) NEBDAL J. and SELIGER V.: Electrophoretic analysis of exercise proteinuria. *J. Appl. Physiol.*, 13: 244, 1958.

- 13) SLATER R.J., O'DOHERTY N.J. and DE WOLFE M.S.: Studies on human proteinuria. I. The mechanisms of postural proteinuria. *Ped.*, 26:190, 1960.
- 14) Mc. KAY E. and SLATER R.J.: Studies of human proteinuria. II. Some characteristics of the gamma globulins excreted in normal, exercise, postural and nephrotic proteinuria. *J. Clin. Invest.*, 41: 1638, 1962.
- 15) MAIORCA R., SCARPIONI L. and RIZZO G.: Damage glomerular. *Giorn. Clin. Med.*, 42: 1210, 1961.
- 16) MAIORCA R. and SCARPIONI L.: Proteinuria in the nephrotic syndrome. *Minerva Nefrol.*, 9: 5, 1962.
- 17) BLAINY J.D., BREWER D.B., HARDWICKE J. and SOOTHILL J.F.: The nephrotic syndrome. *Quart J. Med.*, 29: 235, 1960.
- 18) HARDWICKE J. and SQUIRE J.R.: The relationship between plasma albumin concentration and protein excretion in patients with proteinuria. - *Clin. Sci.*, 14: 509, 1955.
- 19) ROWE D.S.: The molecular weights of the proteins of normal and nephrotic urine and a comparison of selective ultrafiltrates of serum proteins with urine proteins. *Biochem. J.*, 67: 435, 1957.
- 20) HARDWICKE J. and SOOTHILL J.F.: Glomerular damage in terms of "pore size" in renal biopsy. A Ciba Foundation Symposium, G.E. Wolstenholme and M.P. Cameron Eds. Boston, 32. 1961.
- 21) GUYTON A.C.: Tratado de Fisiología Médica. 4a. Ed. Editorial Interamericana. México, 441. 1971.
- 22) TIETZ N.W.: Química Clínica Moderna. 1a. Ed. Editorial Interamericana.

- na. México, 732. 1972.
- 23) BREWER D.B.: Renal clearances of dextrans of varying molecular weights. Proc. Roy. Soc. Med., 44: 561, 1951.
 - 24) WALLENIUS G.: Renal clearance of dextran as a measure of glomerular permeability. Acta Soc. Med. Upsalien., 59(suppl. 4), 1954.
 - 25) JOACHIM R. and col.: Selectivity of protein excretion in patients with the nephrotic syndrome. J. Clin. Invest., 43: 2332, 1964.
 - 26) CAMERON J.S. and WHITE R.: Selectivity of proteinuria in children with the nephrotic syndrome. Lancet 1: 463, 1965.
 - 27) HITZIG W.H., AURICCHIO S. and BENNINGER J.H.: Krankheitszeichen Nieren. Klin. Wschr., 43: 1154, 1965.
 - 28) BARDARE M., CISLAGHI G.U. and ZANI G.: Ricerche immunochimiche sulle proteine urinarie in varie nefropatie infantili. Min. Ped., 22: 1880, 1970.
 - 29) SHERMAN R.L. and BECKER E.L.: Alfa 2-macroglobulin and selectivity of protein excretion. Nephron, 8: 255, 1971.
 - 30) HARDWICKE J.: The estimation of serum proteins by electrophoresis on filter paper. Biochem. J., 47: 832, 1954.
 - 31) BARCELO R. and POLLAK V.E.: The questionable value of protein clearances in kidney disease. The Can. Med. Ass. J., 94: 269, 1966.
 - 32) POLLAK V.E.: Serum proteins in urine: Examination of a new method for concentrating urine. J. Lab. and Clin. Med., 71: 338, 1968.
 - 33) MIYASATO F. and POLLAK V.E.: Serum proteins in urine: An examination of the effects of some methods used to concentrate the urine. J. Lab. -

- and Clin. Med., 67: 1036, 1966.
- 34) MAC LEAN A. and ROBSON J.S.: A simple method for determining selectivity of proteinuria. Lancet, 1: 539, 1967.
- 35) MAC LEAN A. and PETRIE J.: A comparison of gel filtration and immunodiffusion in the determination of selectivity of proteinuria. Clin. Chim. Acta, 14: 367. 1966.
- 36) CAMERON J.S. and BLANDFORD G.: The simple assessment of selectivity in heavy proteinuria. Lancet, 11: 242, 1966.
- 37) CAMERON J.S.: The clinical significance of glomerular permeability - studies. Proc. Roy. Soc. Med., 59: 512, 1966.
- 38) MAIORCA R. and SCARPIONI L.: Urinary excretion of macromolecules in proteinuria. Clin. Chim. Acta, 8: 710, 1963.
- 39) BARCELO R. and POLLAK V.E.: A preliminary immunologic study of urinary proteins. The Can. Med. Ass. J. ,94: 269, 1966.
- 40) MANCINI G. and CARBONARA A.O.: Immunochemical quantitation of antigens by simple radial immunodiffusion. J. Immunochem., 2: 235, 1965.
- 41) PESCE A.J., GAIZUTIS M. and POLLAK V.E.: Selectivity of proteinuria: an evaluation of the immunochemical and gel filtration techniques. J. - Lab. Clin. Med., 75: 4, 1970.
- 42) CROWLE A.J.: Immunodiffusion. 2nd. Ed. Academic Press, N.Y. and London, 1973.
- 43) BARROW G. M. : Química Física. 2a. Ed. Editorial Reverté. México, 841. 1968.

- 44) CLAUSEN J. : Técnicas Inmunoquímicas para la Identificación y Estimación de Macromoléculas. 1a. Ed. Edit. El Manual Moderno. México. 1975.
- 45) GAVIN C. A. : Síndrome Nefrótico. Clínicas Pediátricas de Norteamérica. 547, 1971.
- 46) HAMBURGUER W. : Nephrology. 2nd. Ed. W.B. Sanders Co. London, 664. 1960.
- 47) SCHRIILNER G. E. : The nephrotic syndrome. Nephrologyst. Laboratory Searle and Co. , 1972.
- 48) SMITH P. K. : Glomerulonephritis. 2nd. Ed. Biomedical-Health Publ. London, 1972.
- 49) SPIEGEL M. J. : Estadística. 1a. Ed. Mc. Graw-Hill. México, 84. 1970.
- 50) HOLL P. G. : Estadística Fundamental. 1a. Ed. C. E. C. S. A. . México, 209. 1974.
- 51) BANCROFT H. : Introduction to Biostatistics. 1st. Ed. Hoeber Harper. New York. 173. 1957.